

(19) 世界知的所有権機関  
国際事務局(43) 国際公開日  
2001年11月1日 (01.11.2001)

PCT

(10) 国際公開番号  
WO 01/81401 A1(51) 国際特許分類: C07K 14/47, C12N 15/12, C12P  
21/02, A01K 67/027, C07K 16/18, G01N 33/53

(21) 国際出願番号: PCT/JP01/03468

(22) 国際出願日: 2001年4月23日 (23.04.2001)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:  
特願2000-120358 2000年4月21日 (21.04.2000) JP(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 扶桑薬品  
工業株式会社 (FUSO PHARMACEUTICAL INDUS-  
TRIES, LTD.) [JP/JP]; 〒541-0045 大阪府大阪市中央  
区道修町一丁目7番10号 Osaka (JP).

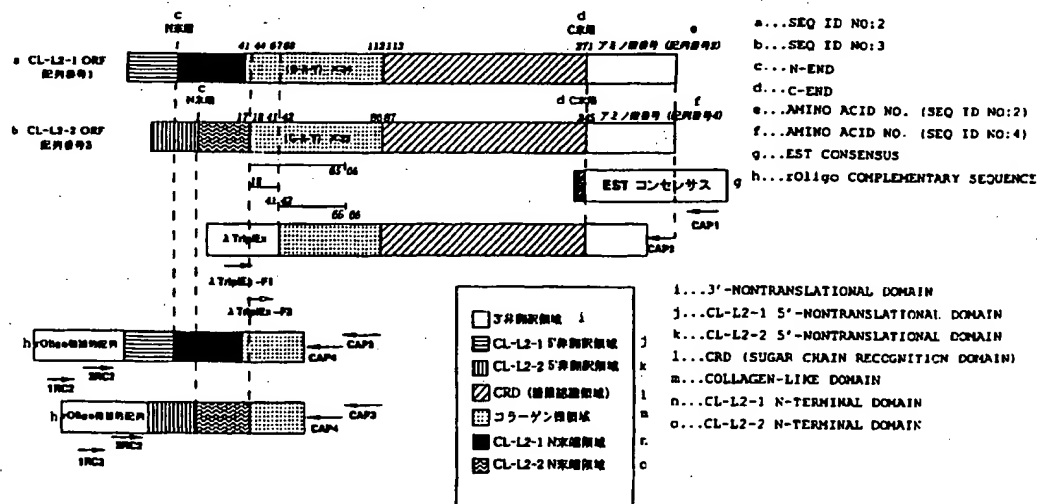
(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 若宮伸隆  
(W. KAMIYA, Nobutaka) [JP/JP]; 〒078-8345 北海道  
旭川市東光五条十丁目1-4 Hokkaido (JP). 芥子宏行  
(KESHI, Hiroyuki) [JP/JP]; 〒558-0042 大阪府大阪市住吉区殿辻一丁目2番25号 Osaka (JP). 大谷克城  
(OHTANI, Katsuki) [JP/JP]; 〒070-8012 北海道旭川市  
神居二条八丁目2-8 SKハイツB Hokkaido (JP). 坂本隆  
志 (SAKAMOTO, Takashi) [JP/JP]; 〒633-0074 奈良県  
桜井市芝1138 Nara (JP). 岸雄一郎 (KISHI, Yuichiro)  
[JP/JP]; 〒640-8324 和歌山県和歌山市吹屋町5-53-4  
Wakayama (JP).(74) 代理人: 角田嘉宏, 外 (SUMIDA, Yoshihiro et al.); 〒  
650-0031 兵庫県神戸市中央区東町123番地の1 貿易  
ビル3階 有古特許事務所 Hyogo (JP).(81) 指定国 (国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB,  
BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM,  
DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL,  
IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU,  
LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL,  
PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ,  
UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.(84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW,  
MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), ユーラシア特許 (AM,  
AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ユーロッパ特許  
(AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT,  
LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG,  
CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

[続葉有]

(54) Title: NOVEL COLLECTINS

(54) 発明の名称: 新規コレクチン



(57) Abstract: Isolated collectin (CL-L2s) genes containing a base sequence represented by SEQ ID NO:1, 3, 5, 7, 9, 12, 36, 38 or 40 relating to novel collectins which are expected as exhibiting an antibacterial activity, an antiviral activity, etc. particularly in the human body; and isolated collectin proteins containing an amino acid sequence represented by SEQ ID NO:2, 4, 6, 8, 10, 13, 37, 39 or 41 and derivatives and fragments thereof.

[続葉有]

BEST AVAILABLE COPY

B10

WO 01/81401 A1



添付公開書類:  
— 国際調査報告書

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

---

(57) 要約:

特にヒトの体内で抗細菌、抗ウイルス活性などを発揮することが期待される新規コレクチンにかかる、配列番号: 1、3、5、7、9、12、36、38もしくは40で示される塩基配列を含む単離されたコレクチン (CL-L2s) 遺伝子、および配列番号: 2、4、6、8、10、13、37、39もしくは41で示されるアミノ酸配列を含む単離されたコレクチンタンパク質とそれらの誘導体ならびに断片を提供する。

## 明 細 書

## 新規コレクチン

## 5   〔技術分野〕

本発明は、単離されたヒトおよびマウスの新規コレクチン（本明細書において各々「hCL-L2」および「mCL-L2」と称し、両者を区別しない場合は単に「CL-L2」と称する。）遺伝子およびタンパク質、それらの相同体、変異体、修飾体および多形性変種（これらを総じて「誘導體」と称する）、それらの断片（以下、それら全てを「CL-L2s」と称する）ならびにそれらの検出に関する。また、CL-L2sを含む医薬用、診断用、研究用組成物、それらの製造方法および使用に関する。更には、CL-L2sタンパク質のアゴニストおよびアンタゴニスト、CL-L2sを用いた薬物のスクリーニング方法に関する。

15   更には、CL-L2s遺伝子を含む発現ベクター、該発現ベクターによって形質転換された形質転換細胞、CL-L2sタンパク質に対する抗体および該抗体を産生する細胞に関する。

## 〔背景技術〕

生体防御に重要な役割を担っている補体系は免疫グロブリンを認識分子とし、補体第一成分であるC1が活性化される古典的経路および細菌等の異物に補体第三成分であるC3が直接結合する第二経路が知られている。近年これらの補体活性化経路に加えて、血清レクチンであるマンノース結合蛋白質（以下、MBPと称する）が異物表面の糖鎖を直接認識し結合することにより補体系を活性化させるレクチン経路が明らかに

20   された（Sato, T. et al. ; Int. Immunol., 6, 665-669, 1994）。

25

MBPはCa存在下、マンノースやN-アセチルグルコサミン等に特

異的に結合するC型レクチンであり、その構造は少なくとも(Gly-Xaa-Ya  
a)<sub>n</sub>から成るコラーゲン様領域、糖鎖認識領域(CRD)を含んでいる。  
MBPと同様にコラーゲン様領域およびCRDを有するレクチンはコレ  
クチンと総称され(Malhotra, R. et al. ; Eur. J. Immunol., 22, 14  
5 37-1445, 1992)、MBP以外にコレクチン-43(CL-43)、サー  
ファクタント蛋白質A(SP-A)、サーファクタント蛋白質D(SP  
-D)およびウシコングルチニン(BKg)等を挙げることができる。  
コレクチンはオプソニン活性を有し、細菌、ウイルスを始めとする様々  
な微生物に対する基礎免疫に関与していると考えられている(Kawasaki,  
10 N. et al. ; J. Biochem., 106, 483-489, 1989, Ikeda, K. et al. ;  
J. Biol. Chem., 262, 7451-7454, 1987, Ohta, M. et al. ; J. Biol.  
Chem., 265, 1980-1984, 1990, Summerfield, J. A. et al. ; Lancet,  
345, 886, 1995)。

これらのコレクチンは、第1図(a)に示すような、(1)CRDおよ  
15 び(2)コラーゲン様領域等の特徴的な領域を含む基本構造から構成さ  
れていることが知られており(Malhortra et al. ; Eur. J. Immunol.,  
22, 1437-1445, 1992)、この基本構造がコラーゲン様領域においてトリ  
プルヘリックスを構成することによりサブユニットを形成し、さらにこ  
のサブユニットが3量体、4量体、6量体等のオリゴマー構造を形成し  
20 ている。

最近、コレクチンによる非特異的な免疫応答への関与が示唆され、例  
えば、母親の移行抗体や特異的防御システムが十分に発達していない小  
児に対し、種々の微生物の中和作用や排除に重要な役割を果たしている  
との報告がなされている(Super et al. ; Lancet, 2, 1236-1239, 198  
25 9)。さらに、宿主の生体防御におけるこれらのコレクチンの役割につい  
て、例えば、MBPの遺伝子上の変異に起因したMBPの血中濃度の低

下によって、宿主が感染を受けやすくなるという研究結果が報告されている (Sumiya et al. ; Lancet, 337, 1569-1570, 1991)。また、オプソニン化不全の血清中MBP含量は低値を示し (Madsen, H. O. et al. ; Immuno genetics, 40, 37-44, 1994) 細菌感染を起こしやすいという  
5 報告があり (Garred, P. et al. ; Lancet, 346, 941-943, 1995)、MBPは免疫機構において重要な役割を担っていると考えられることができる。

本発明者らは、以前にBKgおよびMBPがH1およびH3タイプのインフルエンザA型ウィルスの感染や赤血球凝集活性を阻害することを見出した (Wakamiya et al. ; Glycoconjugate J., 8, 235, 1991、Wakamiya et al. ; Biochem. Biophys. Res. Comm., 187, 1270-1278, 1992)。  
10 2)。その後さらに、BKgをコードするcDNAクローンを取得し、BKgとSP-D等との関連性も見出されている (Suzuki et al. ; Biochem. Biophys. Res. Comm., 191, 335-342, 1993)。

このように、コレクチンは、生体防御機構の解明における有用性および生理活性物質としての有用性等が期待される物質であり、このファミリーに属する新規分子種の発見は、感染症の治療の他、種々の医療分野  
15 そして生物学の分野にも寄与するところ大である。

#### 〔発明の開示〕

本発明は、基礎免疫の機能の解明、細菌感染症等を始めとする各種疾患等の発症機構の解明、さらにその診断、予防および治療法、並びにそれらのための試薬や医薬の開発に利用できるものを提供することを目的とする。  
20

すなわち、本発明は以下の(1)～(33)をその要旨とするものである。

25 (1) 配列番号2のアミノ酸番号1～271に示すアミノ酸271個から成るアミノ酸配列を有するタンパク質、または、配列番号2に示す

アミノ酸配列において1もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ配列番号2のアミノ酸番号1～271に示すアミノ酸配列を有するタンパク質と同等の性質を有するタンパク質、あるいはこれらの誘導体および断片。

- 5       (2) 配列番号45 (配列番号1の塩基番号265～1077に相当) に示す塩基配列、配列番号2のアミノ酸番号1～271に示すアミノ酸配列またはその断片をコードする塩基配列、または、これら塩基配列もしくはこれら塩基配列と相補的な塩基配列とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ配列番号2のアミノ酸番号1～271に示す  
10   アミノ酸配列を有するタンパク質と同等の性質を有するタンパク質をコードする塩基配列。

- (3) 配列番号4のアミノ酸番号1～245に示すアミノ酸245個から成るアミノ酸配列を有するタンパク質、または、配列番号4のアミノ酸番号1～245に示すアミノ酸配列において1もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ配列  
15   番号4のアミノ酸番号1～245に示すアミノ酸配列を有するタンパク質と同等の性質を有するタンパク質、あるいはこれらの誘導体および断片。

- (4) 配列番号46 (配列番号3の塩基番号141～875に相当) に示す塩基配列、配列番号4のアミノ酸番号1～245に示すアミノ酸配列またはその断片をコードする塩基配列、または、これら塩基配列もしくはこれら塩基配列と相補的な塩基配列とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ配列番号4のアミノ酸番号1～245に示す  
20   アミノ酸配列を有するタンパク質と同等の性質を有するタンパク質をコードする塩基配列。  
25

- (5) 配列番号47 (配列番号2のアミノ酸番号113～271に相

当) に示すアミノ酸 1 5 9 個から成るアミノ酸配列を有するタンパク質、  
または、配列番号 2 に示すアミノ酸配列において 1 もしくは数個のアミ  
ノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ配列  
番号 2 のアミノ酸番号 1 1 3 ~ 2 7 1 に示すアミノ酸配列を有するタン  
5 パク質と同等の性質を有するタンパク質、あるいはこれらの誘導体およ  
び断片。

(6) 配列番号 4 8 (配列番号 1 の塩基番号 6 0 1 ~ 1 0 7 7 に相当)  
に示す塩基配列、配列番号 2 のアミノ酸番号 1 1 3 ~ 2 7 1 に示すアミ  
ノ酸配列またはその断片をコードする塩基配列、または、これら塩基配  
10 列もしくはこれら塩基配列と相補的な塩基配列とストリンジェントな条  
件下でハイブリダイズし、かつ配列番号 2 のアミノ酸番号 1 1 3 ~ 2 7  
1 に示すアミノ酸配列を有するタンパク質と同等の性質を有するタンパ  
ク質をコードする塩基配列。

(7) (5) に記載のタンパク質の N 末端側に (Gly-Xaa-Yaa)<sub>n</sub> (但し  
15 n は 1 以上 5 0 以下の整数を示し、Xaa および Yaa はアミノ酸残基を示し、  
Xaa と Yaa は同一アミノ酸残基であっても異なるアミノ酸残基であっても  
良い) の構造をさらに含むことを特徴とするタンパク質。

(8) (7) における (Gly-Xaa-Yaa)<sub>n</sub> が下記群、すなわち、  
Gly-Leu-Lys-Gly-Asp-Ala-Gly-Glu-Lys-Gly-Asp-Lys-Gly-Ala-Pro-Gly-  
20 Arg-Pro-Gly-Arg-Val-Gly-Pro-Thr-Gly-Glu-Lys-Gly-Asp-Met-Gly-Asp-  
Lys-Gly-Gln-Lys-Gly-Ser-Val-Gly-Arg-His-Gly-Lys-Ile-Gly-Pro-Ile-  
Gly-Ser-Lys-Gly-Glu-Lys-Gly-Asp-Ser-Gly-Asp-Ile-Gly-Pro-Pro-Gly-  
Pro-Asn-Gly-Glu-Pro-Gly-Leu-Pro (配列番号 4 9 (配列番号 2 : アミノ  
酸番号 4 1 ~ 1 1 2 に相当))、  
25 Gly-Asp-Ala-Gly-Glu-Lys-Gly-Asp-Lys-Gly-Ala-Pro-Gly-Arg-Pro-Gly-  
Arg-Val-Gly-Pro-Thr-Gly-Glu-Lys-Gly-Asp-Met-Gly-Asp-Lys-Gly-Gln-

- Lys-Gly-Ser-Val-Gly-Arg-His-Gly-Lys-Ile-Gly-Pro-Ile-Gly-Ser-Lys-Gly-Glu-Lys-Gly-Asp-Ser-Gly-Asp-Ile-Gly-Pro-Pro-Gly-Pro-Asn-Gly-Glu-Pro-Gly-Leu-Pro (配列番号 50 (配列番号 2 : アミノ酸番号 44 ~ 112、もしくは配列番号 4 : アミノ酸番号 18 ~ 86 に相当))、
- 5 Gly-Glu-Lys-Gly-Asp-Ser-Gly-Asp-Ile-Gly-Pro-Pro-Gly-Pro-Asn-Gly-Glu-Pro-Gly-Leu-Pro (配列番号 51 (配列番号 2 : アミノ酸番号 92 ~ 112、もしくは配列番号 4 : アミノ酸番号 66 ~ 86 に相当))、
- Gly-Asp-Met-Gly-Asp-Lys-Gly-Gln-Lys-Gly-Ser-Val-Gly-Arg-His-Gly-Lys-Ile-Gly-Pro-Ile-Gly-Ser-Lys-Gly-Glu-Lys-Gly-Asp-Ser-Gly-Asp-
- 10 Ile-Gly-Pro-Pro-Gly-Pro-Asn-Gly-Glu-Pro-Gly-Leu-Pro (配列番号 52 (配列番号 2 : アミノ酸番号 68 ~ 112、もしくは配列番号 4 : アミノ酸番号 42 ~ 86 に相当))、
- Gly-Asp-Ala-Gly-Glu-Lys-Gly-Asp-Lys-Gly-Ala-Pro-Gly-Arg-Pro-Gly-Arg-Val-Gly-Pro-Thr-Gly-Glu-Lys-Gly-Glu-Lys-Gly-Asp-Ser-Gly-Asp-
- 15 Ile-Gly-Pro-Pro-Gly-Pro-Asn-Gly-Glu-Pro-Gly-Leu-Pro (配列番号 11 (配列番号 2 : アミノ酸番号 44 ~ 67 および 92 ~ 112、もしくは配列番号 4 : アミノ酸番号 18 ~ 41 および 66 ~ 86 に相当))、
- Gly-Leu-Lys-Gly-Glu-Lys-Gly-Asp-Ser-Gly-Asp-Ile-Gly-Pro-Pro-Gly-Pro-Asn-Gly-Glu-Pro-Gly-Leu-Pro (配列番号 43 (配列番号 2 : アミノ酸番号 41 ~ 43 および 92 ~ 112 に相当))、
- 20 Gly-Leu-Lys-Gly-Asp-Met-Gly-Asp-Lys-Gly-Gln-Lys-Gly-Ser-Val-Gly-Arg-His-Gly-Lys-Ile-Gly-Pro-Ile-Gly-Ser-Lys-Gly-Glu-Lys-Gly-Asp-Ser-Gly-Asp-Ile-Gly-Pro-Pro-Gly-Pro-Asn-Gly-Glu-Pro-Gly-Leu-Pro (配列番号 42 (配列番号 2 : アミノ酸番号 41 ~ 43 および 68 ~ 112 に相当))、または
- 25 Gly-Leu-Lys-Gly-Asp-Ala-Gly-Glu-Lys-Gly-Asp-Lys-Gly-Ala-Pro-Gly-

Arg-Pro-Gly-Arg-Val-Gly-Pro-Thr-Gly-Glu-Lys-Gly-Glu-Lys-Gly-Asp-Ser-Gly-Asp-Ile-Gly-Pro-Pro-Gly-Pro-Asn-Gly-Glu-Pro-Gly-Leu-Pro  
(配列番号 44 (配列番号 2 : アミノ酸番号 41 ~ 67 および 92 ~ 112 に相当))

5 を含む配列から選択されることを特徴とする (7) のタンパク質。

(9) (7) または (8) に記載のタンパク質をコードする塩基配列。

(10) (7) または (8) に記載のタンパク質の (Gly-Xaa-Yaa)<sub>n</sub> の構造のN末端に以下のアミノ酸配列すなわち、

Met-Arg-Gly-Asn-Leu-Ala-Leu-Val-Gly-Val-Leu-Ile-Ser-Leu-Ala-Phe-  
10 Leu-Ser-Leu-Leu-Pro-Ser-Gly-His-Pro-Gln-Pro-Ala-Gly-Asp-Asp-Ala-Cys-Ser-Val-Gln-Ile-Leu-Val-Pro (配列番号 53 (配列番号 2 : アミノ酸番号 1 ~ 40 に相当)) をさらに含むことを特徴とするタンパク質。

(11) (7) または (8) に記載のタンパク質の (Gly-Xaa-Yaa)<sub>n</sub> の構造のN末端に以下のアミノ酸配列すなわち、

15 Met-Trp-Trp-Val-Pro-Pro-Ser-Pro-Tyr-Gly-Cys-Leu-Pro-Cys-Ala-Leu-Pro (配列番号 54 (配列番号 4 : アミノ酸番号 1 ~ 17 に相当)) をさらに含むことを特徴とするタンパク質。

(12) (10) または (11) に記載のタンパク質をコードする塩基配列。

20 (13) 配列番号 6 のアミノ酸番号 1 ~ 197 に示すアミノ酸 197 個から成るアミノ酸配列を有するタンパク質、または、配列番号 6 に示すアミノ酸配列において 1 もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ配列番号 6 のアミノ酸番号 1 ~ 197 に示すアミノ酸配列を有するタンパク質と同等の性質を有する  
25 タンパク質、あるいはこれらの誘導体および断片。

(14) 配列番号 55 (配列番号 5 の塩基番号 141 ~ 731 に相当)

に示す塩基配列、配列番号 6 のアミノ酸番号 1 ～ 197 に示すアミノ酸配列またはその断片をコードする塩基配列、または、これら塩基配列もしくはこれら塩基配列と相補的な塩基配列とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ配列番号 6 のアミノ酸番号 1 ～ 197 に示す  
5 アミノ酸配列を有するタンパク質と同等の性質を有するタンパク質をコードする塩基配列。

(15) 配列番号 8 のアミノ酸番号 1 ～ 221 に示すアミノ酸 221 個から成るアミノ酸配列を有するタンパク質、または、配列番号 8 のアミノ酸番号 1 ～ 221 に示すアミノ酸配列において 1 もしくは数個のア  
10 ミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ配列番号 8 のアミノ酸番号 1 ～ 221 に示すアミノ酸配列を有するタンパク質と同等の性質を有するタンパク質、あるいはこれらの誘導体および断片。

(16) 配列番号 56 (配列番号 7 の塩基番号 141 ～ 803 に相当)  
15 に示す塩基配列、配列番号 8 のアミノ酸番号 1 ～ 221 に示すアミノ酸配列またはその断片をコードする塩基配列、または、これら塩基配列もしくはこれら塩基配列と相補的な塩基配列とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ配列番号 8 のアミノ酸番号 1 ～ 221 に示すアミノ酸配列を有するタンパク質と同等の性質を有するタンパク質を  
20 コードする塩基配列。

(17) 配列番号 10 のアミノ酸番号 1 ～ 221 に示すアミノ酸 221 個から成るアミノ酸配列を有するタンパク質、または、配列番号 10 のアミノ酸番号 1 ～ 221 に示すアミノ酸配列において 1 もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列からなり、か  
25 つ配列番号 10 のアミノ酸番号 1 ～ 221 に示すアミノ酸配列を有するタンパク質と同等の性質を有するタンパク質、あるいはこれらの誘導体

および断片。

(18) 配列番号 57 (配列番号 9 の塩基番号 141 ~ 803 に相当) に示す塩基配列、配列番号 10 のアミノ酸番号 1 ~ 221 に示すアミノ酸配列またはその断片をコードする塩基配列、または、これら塩基配列  
5 もしくはこれら塩基配列と相補的な塩基配列とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ配列番号 10 のアミノ酸番号 1 ~ 221 に示すアミノ酸配列を有するタンパク質と同等の性質を有するタンパク質をコードする塩基配列。

(19) 配列番号 13 のアミノ酸番号 1 ~ 271 に示すアミノ酸 27  
10 1 個から成るアミノ酸配列を有するタンパク質、または、配列番号 13 のアミノ酸番号 1 ~ 271 に示すアミノ酸配列において 1 もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ配列番号 13 のアミノ酸番号 1 ~ 271 に示すアミノ酸配列を有するタンパク質と同等の性質を有するタンパク質、あるいはこれらの誘導体  
15 および断片。

(20) 配列番号 58 (配列番号 12 の塩基番号 157 ~ 969 に相当) に示す塩基配列、配列番号 13 のアミノ酸番号 1 ~ 271 に示すアミノ酸配列またはその断片をコードする塩基配列、または、これら塩基配列もしくはこれら塩基配列と相補的な塩基配列とストリンジェントな  
20 条件下でハイブリダイズし、かつ配列番号 13 のアミノ酸番号 1 ~ 271 に示すアミノ酸配列を有するタンパク質と同等の性質を有するタンパク質をコードする塩基配列。

(21) 配列番号 37 のアミノ酸番号 1 ~ 223 に示すアミノ酸 22  
3 個から成るアミノ酸配列を有するタンパク質、または、配列番号 37  
25 のアミノ酸番号 1 ~ 223 に示すアミノ酸配列において 1 もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列からなり、か

つ配列番号 37 のアミノ酸番号 1 ~ 223 に示すアミノ酸配列を有するタンパク質と同等の性質を有するタンパク質、あるいはこれらの誘導体または断片。

(22) 配列番号 59 (配列番号 36 の塩基番号 265 ~ 933 に相当) に示す塩基配列、配列番号 37 のアミノ酸番号 1 ~ 223 に示すアミノ酸配列またはその断片をコードする塩基配列、または、これら塩基配列もしくはこれら塩基配列と相補的な塩基配列とストリンジেন্টな条件下でハイブリダイズし、かつ配列番号 37 のアミノ酸番号 1 ~ 223 に示すアミノ酸配列を有するタンパク質と同等の性質を有するタンパク質をコードする塩基配列。

(23) 配列番号 39 のアミノ酸番号 1 ~ 247 に示すアミノ酸 247 個から成るアミノ酸配列を有するタンパク質、または、配列番号 39 のアミノ酸番号 1 ~ 247 に示すアミノ酸配列において 1 もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ配列番号 39 のアミノ酸番号 1 ~ 247 に示すアミノ酸配列を有するタンパク質と同等の性質を有するタンパク質、あるいはこれらの誘導体または断片。

(24) 配列番号 60 (配列番号 38 の塩基番号 265 ~ 1005 に相当) に示す塩基配列、配列番号 39 のアミノ酸番号 1 ~ 247 に示すアミノ酸配列またはその断片をコードする塩基配列、または、これら塩基配列もしくはこれら塩基配列と相補的な塩基配列とストリンジেন্টな条件下でハイブリダイズし、かつ配列番号 39 のアミノ酸番号 1 ~ 247 に示すアミノ酸配列を有するタンパク質と同等の性質を有するタンパク質をコードする塩基配列。

(25) 配列番号 41 のアミノ酸番号 1 ~ 247 に示すアミノ酸 247 個から成るアミノ酸配列を有するタンパク質、または、配列番号 41

のアミノ酸番号 1 ~ 2 4 7 に示すアミノ酸配列において 1 もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ配列番号 4 1 のアミノ酸番号 1 ~ 2 4 7 に示すアミノ酸配列を有するタンパク質と同等の性質を有するタンパク質、あるいはこれらの誘導体  
5 または断片。

(2 6) 配列番号 6 1 (配列番号 4 0 の塩基番号 2 6 5 ~ 1 0 0 5 に相当) に示す塩基配列、配列番号 4 1 のアミノ酸番号 1 ~ 2 4 7 に示すアミノ酸配列またはその断片をコードする塩基配列、または、これら塩基配列もしくはこれら塩基配列と相補的な塩基配列とストリンジェント  
10 な条件下でハイブリダイズし、かつ配列番号 4 1 のアミノ酸番号 1 ~ 2 4 7 に示すアミノ酸配列を有するタンパク質と同等の性質を有するタンパク質をコードする塩基配列。

(2 7) (2)、(4)、(6)、(9)、(1 2)、(1 4)、(1 6)、(1 8)、(2 0)、(2 2)、(2 4) または (2 6) に記載  
15 の塩基配列を含むことを特徴とするベクター。

(2 8) (2)、(4)、(6)、(9)、(1 2)、(1 4)、(1 6)、(1 8)、(2 0)、(2 2)、(2 4) または (2 6) に記載の塩基配列を発現可能に保持する形質転換細胞。

(2 9) (2)、(4)、(6)、(9)、(1 2)、(1 4)、(1 6)、(1 8)、(2 2)、(2 4) または (2 6) に記載の塩基配列  
20 で形質転換した細胞を培養し、産生された h C L - L 2 s タンパク質を採取することを特徴とするタンパク質の製造法。

(3 0) (2 0) 記載の塩基配列で形質転換した細胞を培養し、産生された m C L - L 2 s タンパク質を採取することを特徴とするタンパク  
25 質の製造法。

(3 1) 細胞が大腸菌、動物細胞または昆虫細胞である、(2 9) ま

たは (30) に記載の製造法。

(32) CL-L2s 遺伝子の発現レベルを変化させたトランスジェニック非ヒト動物。

5 (33) mCL-L2s 遺伝子の機能を欠損させたノックアウトマウス。

(34) (1)、(3)、(5)、(7)、(8)、(10)、(11)、(13)、(15)、(17)、(19)、(21)、(23) または (25) に記載のタンパク質またはその断片に対する抗体。

10 (35) ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体またはペプチド抗体である (34) 記載の抗体。

(36) (34) または (35) に記載の抗体と CL-L2s タンパク質またはその断片との免疫学的な結合に基づいて、該タンパク質またはその断片を測定する方法。

15 (37) (1)、(3)、(5)、(7)、(8)、(10)、(11)、(13)、(15)、(17)、(19)、(21)、(23) または (25) に記載のタンパク質の機能を刺激するアゴニスト。

(38) (1)、(3)、(5)、(7)、(8)、(10)、(11)、(13)、(15)、(17)、(19)、(21)、(23) または (25) に記載のタンパク質の機能を阻害するアンタゴニスト。

20 (39) (1)、(3)、(5)、(7)、(8)、(10)、(11)、(13)、(15)、(17)、(19)、(21)、(23) または (25) に記載のタンパク質を用いることを特徴とする薬物のスクリーニング方法。

(40) (39) に記載のスクリーニング方法によって得られた薬物。

25 [図面の簡単な説明]

第1図は、従来報告されている主なコレクチンの基本構造 (a) およ

びタンパク質（MBP、SP-AおよびSP-D）の概観を示す図である。第2図は、従来報告されている4種のコレクチンのアミノ酸配列のアラインメントの前半部分を示す図である。第3図は、第2図と同様のアラインメントの後半部分を示す図である。第4図は、本発明の新規コレクチンの塩基配列を決定するために使用した各プライマーと、得られた新規コレクチンを示す図（a）、（b）である。第5図は、従来報告されている4種のコレクチンと、本発明の新規コレクチン（hCL-L2-1）のアミノ酸配列のアラインメントの前半部分を示す図である。第6図は、第5図と同様のアラインメントの後半部分を示す図である。第7図は、本発明の新規コレクチンhCL-L2の臓器分布を示す、ヒトの種々の組織におけるmRNAの分布の分析結果を示す図である。第8図は、種々のコレクチンの遺伝的系統樹を示す図である。第9図は、本発明の新規コレクチン（hCL-L2-1およびhCL-L2-2）の臓器分布を示す、ヒトの種々の組織におけるmRNAの分布の分析結果を示す図である。第10図は、本発明の新規コレクチンhCL-L2-1の糖結合特性を示す図である。

〔発明を実施するための最良の形態〕

本発明者らはヒトおよびマウス新規コレクチン遺伝子（hCL-L2およびmCL-L2）のクローニングに成功した。新規CL-L2のC末端側には、基礎免疫に関与すると考えられるCRD（配列番号2および13のアミノ酸番号113～271、配列番号4のアミノ酸番号87～245）ならびに（Gly-Xaa-Yaa）<sub>n</sub>構造を有するコラーゲン様領域（配列番号2および13のアミノ酸番号41～112、配列番号4のアミノ酸番号18～86）を有していた。

また、hCL-L2には第4図に示したように、N末端側のアミノ酸配列が異なる2種類のタンパク質（CL-L2-1およびCL-L2-2

2) が存在していた。具体的には、CL-L 2-1 (配列番号 2 に示す) の N 末端側 (第 1 ~ 43 位) アミノ酸と CL-L 2-2 (配列番号 4 に示す) の N 末端側 (第 1 ~ 17 位) アミノ酸が異なっており、その余は同一であった。さらに、CL-L 2-1 の N 末端側アミノ酸の第 1 ~ 4  
5 3 位にはシグナル配列およびコラーゲン構造 1 巻分等が含有されていたが、CL-L 2-2 の N 末端側アミノ酸第 1 ~ 17 位にはシグナル配列およびコラーゲン様構造一巻分は存在しなかった。

加えて、CL-L 2-2 には mRNA のオルターナティブスプライシングによって生じる 3 種のタンパク質が存在していた。それらを CL-L 2-2 v 1 (配列番号 5、6)、CL-L 2-2 v 2 (配列番号 7、  
10 8) および CL-L 2-2 v 3 (配列番号 9、10) と称す。CL-L 2-2 v 1 は、配列番号 4 に示す CL-L 2-2 のアミノ酸番号 18 ~ 65 間欠失 (配列番号 3 に示す CL-L 2-2 の塩基番号 192 ~ 335 間欠失) したものであり、CL-L 2-2 v 2 は、配列番号 4 に  
15 示す CL-L 2-2 のアミノ酸番号 18 ~ 41 間欠失 (配列番号 3 に示す CL-L 2-2 の塩基番号 192 ~ 263 間欠失) したものであり、CL-L 2-2 v 3 は、配列番号 4 に示す CL-L 2-2 のアミノ酸番号 42 ~ 65 間欠失 (配列番号 3 に示す CL-L 2-2 の塩基番号 264 ~ 335 間欠失) したものである。これら 3 種のタンパク質  
20 は、すべて CL-L 2-2 のコラーゲン様領域内のスプライシングの差異により生じていた。

さらに、CL-L 2-1 には mRNA のオルターナティブスプライシングによって生じる 3 種のタンパク質が存在していた。それらを CL-L 2-1 v 1 (配列番号 36、37)、CL-L 2-1 v 2 (配列番号  
25 38、39) および CL-L 2-1 v 3 (配列番号 40、41) と称す。CL-L 2-1 v 1 は、配列番号 2 に示す CL-L 2-1 のアミノ酸番

号44～91間が欠失（配列番号1に示すCL-L2-1の塩基番号394～537間が欠失）したものであり、CL-L2-1 v2は、配列番号2に示すCL-L2-1のアミノ酸番号44～67間が欠失（配列番号1に示すCL-L2-1の塩基番号394～465間が欠失）したものであり、CL-L2-1 v3は、配列番号2に示すCL-L2-1のアミノ酸番号68～91間が欠失（配列番号1に示すCL-L2-1の塩基番号466～537間が欠失）したものである。これら3種のタンパク質は、すべてCL-L2-1のコラーゲン様領域内のスプライシングの差異により生じていた。

- 10 本明細書において使用するhCL-L2遺伝子とは、特記しない限り、それぞれ配列番号1に示すhCL-L2-1、配列番号3に示すhCL-L2-2、配列番号5に示すhCL-L2-2 v1、配列番号7に示すhCL-L2-2 v2、配列番号9に示すhCL-L2-2 v3、配列番号36に示すhCL-L2-1 v1、配列番号38に示すhCL-L2-1 v2、および配列番号40に示すhCL-L2-1 v3を包含する。本明細書において使用するhCL-L2タンパク質とは、特記しない限り、それぞれ配列番号2に示すhCL-L2-1、配列番号4に示すhCL-L2-2、配列番号6に示すhCL-L2-2 v1、配列番号8に示すhCL-L2-2 v2、配列番号10に示すhCL-L2-2 v3、配列番号37に示すhCL-L2-1 v1、配列番号39に示すhCL-L2-1 v2、および配列番号41に示すhCL-L2-1 v3を包含する。また、それらの相同体、変異体、修飾体および多形性変種（これらを総じて「誘導体」と称する）、並びにそれらの断片を含むものとする。これらは天然または人工的作製を問わない。本発明には前記記載の全てが包含される。
- 25

本明細書において使用するmCL-L2遺伝子とは、特記しない限り、

配列番号 12 に示す mCL-L2 を包含する。本明細書において使用する mCL-L2 タンパク質とは、特記しない限り、それぞれ配列番号 13 に示す mCL-L2 を包含する。また、それらの相同体、変異体、修飾体および多形性変種（これらを総じて「誘導体」と称する）、並びに  
5 それらの断片を含むものとする。これらは天然または人工的作製を問わない。本発明には前記記載の全てが包含される。

また、本発明には、実質的に配列番号 2、4、6、8、10、13、37、39 もしくは 41、配列番号 47（配列番号 2 のアミノ酸番号 113～271 に相当）または配列番号 13 のアミノ酸番号 113～271  
10 1 に示すアミノ酸配列に類似するアミノ酸配列、および実質的に配列番号 2、4、6、8、10、13、37、39 もしくは 41、配列番号 47（配列番号 2 のアミノ酸番号 113～271 に相当）または配列番号 13 のアミノ酸番号 113～271 に示すアミノ酸配列に類似するアミノ酸配列をコードする塩基配列も含まれる。さらにこれらのアミノ酸配  
15 列を有するタンパク質も含まれる。配列番号 2、4、6、8、10、13、37、39 もしくは 41、配列番号 47（配列番号 2 のアミノ酸番号 113～271 に相当）または配列番号 13 のアミノ酸番号 113～271 示すアミノ酸配列に実質的に類似するアミノ酸配列とは、配列番号 2、4、6、8、10、13、37、39 もしくは 41、配列番号 4  
20 7（配列番号 2 のアミノ酸番号 113～271 に相当）または配列番号 13 のアミノ酸番号 113～271 に示すアミノ酸配列を含むタンパク質と同等の性質を有する範囲内で、1 もしくは数個のアミノ酸の置換、欠失、付加および／または挿入等の改変を有するアミノ酸配列をいう。これらは天然または人工的作製を問わない。

25 かかる 1 または複数のアミノ酸の欠失、置換及び／または付加とは、新規コレクチンの親水性・疎水性、酸性・塩基性、含有基などに大幅な

変化をきたさず、(1)  $\text{Ca}^{2+}$  要求性の糖認識構造様領域 (CRD) 及び (2) コラーゲン様領域の有する各々の基本的な特徴を変えることが少ない範囲でのアミノ酸の欠失、置換及び／または付加を称する。これまでに報告されているコレクチンファミリーのタンパク質のアミノ酸配  
5 列とその構造に基づき、例えば (1)  $\text{Ca}^{2+}$  要求性の糖認識構造様領域 (CRD) において 1～10 程度、(2) コラーゲン様領域において 1～50 程度、好ましくは 1～15 のアミノ酸の欠失、置換及び／または付加が許容されると考えられる。

そして同等の性質とは、改変前のアミノ酸配列を含むタンパク質固有  
10 の性質、例えばタンパク質三次構造に関わる特性を称するものとする。

さらに、本発明には、配列番号 1、3、5、7、9、12、36、39 もしくは 41、配列番号 48 (配列番号 1 の塩基番号 601～1077 に相当) または配列番号 12 の塩基番号 493～969 のいずれかに記載の核酸配列またはその断片を含む核酸配列、またはこれらに相補的  
15 な核酸配列 (以下、特定配列と称する) とストリンジントな条件下ハイブリダイズすることができる核酸配列も含まれる。本発明におけるストリンジントな条件とは、例えば、5×SSC、5%デンハート溶液 (0.1% BSA、0.1% Ficoll 400、0.1% PVP)、0.5% SDS および 20  $\mu\text{g}/\text{mL}$  変性サケ精子 DNA を含有する溶液中で、  
20 37℃にて一夜インキュベートし、ついで室温にて 0.1% SDS 含有 2×SSC で洗浄する条件である。SSC の代わりに適宜 SSPE を使用してもよい。この様にして得られた核酸配列は、少なくとも特定配列と 50% 以上の相同性 (ホモロジー) を有すると考えられる。特定配列とストリンジントな条件下ハイブリダイズすることができる核酸配列  
25 によってコードされるタンパク質は、CL-L2s タンパク質と同等の性質を持つものが多いと考えられ、CL-L2s タンパク質と同等の性

質を有する限り、該タンパク質も本発明に含まれる。

特に、配列番号 2 に示す h C L - L 2 - 1 (アミノ酸番号 1 ~ 2 7 1) のアミノ酸配列はアミノ酸 2 7 1 個から成るタンパク質であり、それをコードする塩基配列 (配列番号 4 5) は塩基数 8 1 3 個から成る。該配  
5 列にはシグナル配列、コラーゲン様ドメイン、CRDドメイン等の特徴的なアミノ酸配列が存在していた。このタンパク質をコードする塩基配列を配列番号 1 に示した。

また、配列番号 4 に示す h C L - L 2 - 2 (アミノ酸番号 1 ~ 2 4 5) のアミノ酸配列はアミノ酸 2 4 5 個から成るタンパク質であり、それを  
10 コードする塩基配列 (配列番号 4 6) は塩基数 7 3 5 個から成る。該配列にはコラーゲン様ドメイン、CRDドメイン等の特徴的なアミノ酸配列が存在していた。このタンパク質をコードする塩基配列を配列番号 3 に示した。

また、配列番号 6 に示す h C L - L 2 - 2 v 1 (アミノ酸番号 1 ~ 1  
15 9 7) のアミノ酸配列はアミノ酸 1 9 7 個から成るタンパク質であり、それをコードする塩基配列 (配列番号 5 5) は塩基数 5 9 1 個から成る。該配列にはコラーゲン様ドメイン、CRDドメイン等の特徴的なアミノ酸配列が存在していた。このタンパク質をコードする塩基配列を配列番号 5 に示した。

20 また、配列番号 8 に示す h C L - L 2 - 2 v 2 (アミノ酸番号 1 ~ 2 2 1) のアミノ酸配列はアミノ酸 2 2 1 個から成るタンパク質であり、それをコードする塩基配列 (配列番号 5 6) は塩基数 6 6 3 個から成る。該配列にはコラーゲン様ドメイン、CRDドメイン等の特徴的なアミノ酸配列が存在していた。このタンパク質をコードする塩基配列を配列番  
25 号 7 に示した。

また、配列番号 1 0 に示す h C L - L 2 - 2 v 3 (アミノ酸番号 1 ~

2 2 1) のアミノ酸配列はアミノ酸 2 2 1 個から成るタンパク質であり、それをコードする塩基配列 (配列番号 5 7) は塩基数 6 6 3 個から成る。該配列にはコラーゲン様ドメイン、CRDドメイン等の特徴的なアミノ酸配列が存在していた。このタンパク質をコードする塩基配列を配列番号 9 に示した。

また、配列番号 3 7 に示す hCL-L 2-1 v 1 (アミノ酸番号 1 ~ 2 2 3) のアミノ酸配列はアミノ酸 2 2 3 個から成るタンパク質であり、それをコードする塩基配列 (配列番号 5 9) は塩基数 6 6 9 個から成る。該配列にはコラーゲン様ドメイン、CRDドメイン等の特徴的なアミノ酸配列が存在していた。このタンパク質をコードする塩基配列を配列番号 3 6 に示した。

また、配列番号 3 9 に示す hCL-L 2-1 v 2 (アミノ酸番号 1 ~ 2 4 7) のアミノ酸配列はアミノ酸 2 4 7 個から成るタンパク質であり、それをコードする塩基配列 (配列番号 6 0) は塩基数 7 4 1 個から成る。該配列にはコラーゲン様ドメイン、CRDドメイン等の特徴的なアミノ酸配列が存在していた。このタンパク質をコードする塩基配列を配列番号 3 8 に示した。

また、配列番号 4 1 に示す hCL-L 2-1 v 2 (アミノ酸番号 1 ~ 2 4 7) のアミノ酸配列はアミノ酸 2 4 7 個から成るタンパク質であり、それをコードする塩基配列 (配列番号 6 1) は塩基数 7 4 1 個から成る。該配列にはコラーゲン様ドメイン、CRDドメイン等の特徴的なアミノ酸配列が存在していた。このタンパク質をコードする塩基配列を配列番号 4 0 に示した。

さらに、配列番号 1 3 に示す mCL-L 2 (アミノ酸番号 1 ~ 2 7 1) のアミノ酸配列はアミノ酸 2 7 1 個から成るタンパク質であり、それをコードする塩基配列 (配列番号 5 8) は塩基数 8 1 3 個から成る。該配

列にはコラーゲン様ドメイン、CRDドメイン等の特徴的なアミノ酸配列が存在していた。このタンパク質をコードする塩基配列を配列番号12に示した。

本明細書中で使用する相同体とは、ホモロジーが高い核酸配列または  
5 アミノ酸配列であり、ホモロジーが少なくとも50%以上、好ましくは70%以上、より好ましくは90%以上のものをいう。配列中に欠失や挿入が存在する場合には、ギャップ結合を許した相同性検索を行うと良い。例えば、マルチプル・アライメント（商品名：SODHO、富士通）の手法を用いて検索することができる。また、相同性検索のアルゴリズムには、最も厳密なSmith-Watermanアルゴリズムを用いることができる。  
10 その他、FASTAやBLAST等、インターネットを通じて利用することができる。

本明細書中で使用する変異体とは、例えば、対立遺伝子（アレル）、一ヌクレオチド多型（Single Nucleotide Polymorphism：SNP）等を  
15 挙げることができる。また、核酸配列の変異はコドンの縮重の範囲内で変化したものも本発明の核酸配列に含まれる。核酸配列のコドンの一部改変は、常法に従い、所望の改変をコードする合成オリゴヌクレオチドから成るプライマーを利用した部位特異的変異導入法（Mark, D. F. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 81, 5662, 1984）等に従って行う  
20 ことができる、得られた人工的遺伝子変異体も本発明の核酸配列に含まれる。また、コドンの縮重の範囲を超えた場合であっても、変異したコドンによって翻訳された変異アミノ酸が、正常アミノ酸と類似の性質であることが好ましい。例えば、脂肪族アミノ酸であるアラニン、バリン、ロイシンおよびイソロイシン間での変異、中性アミノ酸であるグリシン、  
25 アラニン、セリン、トレオニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、システイン、メチオニン、フェニルアラニン、チロシン、プロリン、トリ

プトファン、アスパラギンおよびグルタミン間での変異、酸性アミノ酸であるアスパラギン酸およびグルタミン酸間での変異、塩基性アミノ酸であるアルギニン、リジンおよびヒスチジン間での変異、水酸基を有するセリンおよびトレオニン間での変異、芳香環を有するフェニルアラニンおよびチロシン間での変異等、アミノ酸の性質・機能・特性等が類似のものであるのが好ましい。これら人工的または天然に変異したタンパク質も本発明のタンパク質の含まれる。人工的には、PCR法を用いて部位特異的変異を起こすことができ、その他公知の方法を用いて任意の場所に変異を起こさせることができる。

- 10 本明細書中で使用する修飾体とは、例えば、アセチル化、アシル化、ADP-リボシル化、アミド化、ミリストイル化、グリコシル化、水酸化、リン酸化、硫酸化、ホルミル化、メチル化、ポリエチレングリコール化、脂質結合、ヌクレオチド結合、金属結合（カルシウム付加体等）、多のタンパク質（アルブミン等）との融合体、二量体等の改変を通常の
- 15 技術を用いて施すことができる。例えば、グリコシル化は宿主が大腸菌では起こらないため、グリコシル化を企図する場合には、真核細胞に発現すると良い。昆虫細胞も哺乳細胞と同様に翻訳後にグリコシル化を行うため使用することができる。

- 本明細書中で使用する多型性変種とは、例えば、染色体DNAの構造
- 20 や形態の差異により生じる多型性、ある遺伝子が対立遺伝子に変化したために生じる多型性等をいう。一般に真核生物の遺伝子は多形現象を示すことが多く、この現象によって1個あるいはそれ以上のアミノ酸が置換される場合もあり、また、その場合であってもタンパク質の活性が保持される場合もある。ゆえに、配列番号2、4、6、8、10もしくは
- 25 13、37、39もしくは41、配列番号47（配列番号2のアミノ酸番号113～271に相当）または配列番号13のアミノ酸番号113

～ 271 のいずれかに示されるアミノ酸配列をコードする遺伝子を人工的に改変したものをを用いて得られたタンパク質をコードする遺伝子は、該タンパク質が本発明の遺伝子の特徴的な機能を有する限り全て本発明に含まれる。さらに、配列番号 2、4、6、8、10 もしくは 13、37、39 もしくは 41、配列番号 47（配列番号 2 のアミノ酸番号 113～271 に相当）または配列番号 13 のアミノ酸番号 113～271 のいずれかに示されるアミノ酸配列を人工的に改変したタンパク質は、本発明のタンパク質の特徴を有する限り全て本発明に含有される。改変とは、置換、欠失、付加および／または挿入を含むと解する。

- 10        本明細書中で使用する断片とは、例えば、上述した CL-L2s が有するアミノ酸配列中の任意の断片を意味し、例えば、細胞外ドメイン、細胞内ドメイン、膜貫通ドメイン、コラーゲン様ドメイン、CRDドメイン、コレクチン様ドメイン、疎水性ドメイン（膜貫通ドメイン等）、親水性ドメイン（疎水性ドメイン以外）等を挙げることができ、またこれら断片を融合させた断片挙げることができる。

- 例えば、配列番号 2 に示す hCL-L2-1 アミノ酸配列において、CRDドメインを形成する約 113～271 番目のアミノ酸を有する断片、CRDドメインおよびコラーゲン様ドメインを形成する約 41～271 番目のアミノ酸を有する断片、コラーゲン様ドメインを形成する約 41～112 番目のアミノ酸を有する断片を挙げることができる。さらに、配列番号 4 に示す hCL-L2-2 アミノ酸配列において、CRDドメインおよびコラーゲン様ドメインを形成する約 18～245 番目のアミノ酸を有する断片、コラーゲン様ドメインを形成する約 18～86 番目のアミノ酸を有する断片；配列番号 6 に示す hCL-L2-2v1
- 20        アミノ酸配列において、CRDドメインおよびコラーゲン様ドメインを形成する約 18～197 番目のアミノ酸を有する断片、コラーゲン様
- 25

- メインを形成する約18～38番目のアミノ酸を有する断片；配列番号8に示すhCL-L2-2v2アミノ酸配列において、CRDドメインおよびコラーゲン様ドメインを形成する約18～221番目のアミノ酸を有する断片、コラーゲン様ドメインを形成する約18～62番目のアミノ酸を有する断片；配列番号10に示すhCL-L2-2v3アミノ酸配列において、CRDドメインおよびコラーゲン様ドメインを形成する約18～221番目のアミノ酸を有する断片、コラーゲン様ドメインを形成する約18～62番目のアミノ酸を有する断片を挙げることができる。そして、配列番号37に示すhCL-L2-1v1アミノ酸配列において、CRDドメインおよびコラーゲン様ドメインを形成する約41～223番目のアミノ酸を有する断片、コラーゲン様ドメインを形成する約41～64番目のアミノ酸を有する断片；配列番号39に示すhCL-L2-1v2アミノ酸配列において、CRDドメインおよびコラーゲン様ドメインを形成する約41～247番目のアミノ酸を有する断片、コラーゲン様ドメインを形成する約41～88番目のアミノ酸を有する断片；配列番号41に示すhCL-L2-1v3アミノ酸配列において、CRDドメインおよびコラーゲン様ドメインを形成する約41～247番目のアミノ酸を有する断片、コラーゲン様ドメインを形成する約41～88番目のアミノ酸を有する断片を挙げることができる。また、配列番号13に示すmCL-L2アミノ酸配列において、CRDドメインを形成する約113～271番目のアミノ酸を有する断片、CRDドメインおよびコラーゲン様ドメインを形成する約41～271番目のアミノ酸を有する断片、コラーゲン様ドメインを形成する約41～112番目のアミノ酸を有する断片を挙げることができる。

#### 25 CL-L2s 遺伝子取得方法

本発明のCL-L2s 遺伝子は、いかなる方法で得られるものであっ

ても良い。例えば、本発明のCL-L2sをコードする塩基配列は、該タンパク質を発現している細胞からmRNAを調製して、常法により二本鎖DNAに変換して得ることができる。mRNAの調製にはグアニジンイソチオシアネート・塩化カルシウム法(Chirwin, et al., Biochemistry, 18, 5294, 1979)等を用いることができる。全RNAからのポリ(A)<sup>+</sup>RNAの調製は、オリゴ(dT)を結合した担体、例えばセファロースあるいはラテックス粒子等を用いたアフィニティークロマトグラフィー等を用いて行うことができる。上記のごとくして得られたRNAを鋳型にして、3'末端に存在するポリ(A)鎖に相補的なオリゴ(dT)またはランダムプライマーあるいはCL-L2sのアミノ酸配列の一部に相応する合成オリゴヌクレオチドをプライマーとして逆転写酵素で処理し(Mol. Cell Biol., 2, 161, 1982, Mol. Cell Biol., 3, 280, 1983, Gene, 25, 263, 1983)、この様にして得られたcDNA鎖を、例えばE.coli RNaseH、E.coli DNA polymerase 1、E.coli DNA ligaseで

15 処理し、DNA鎖に変換することにより、二本鎖cDNAを得ることができる。このcDNAをプラスミドベクター、ファージベクター、コスミドベクターに組み込み、大腸菌を形質転換して、あるいはインビトロパッケージングを施した後、大腸菌にトランスフェクトすることによりcDNAライブラリーを作製することができる。

20 ここで用いることができるプラスミドベクターとしては、宿主内で複製保持されるものであれば特に制限されなく、ファージベクターについても宿主内で増殖できるものであれば特に制限されない。クローニング用ベクターとして、例えば、pBR322、pUC19、λgt10、λgt11等が挙げられる。また、免疫学的スクリーニングに供する場合

25 には、宿主内でCL-L2s遺伝子を発現させることができるプロモーターを有するベクターであることが好ましい。

プラスミドにcDNAを組み込む方法としては、Maniatisらの方法 (Molecular Cloning, A Laboratory Manual, second edition) 等を参考にすることができる。また、ファージベクターにcDNAを組み込む方法としては、Hyunhらの方法 (DNA cloning, a practical approach, 1, 49, 5 1985) 等を参考にすることができる。

上記発現ベクターの宿主細胞への導入法としては、例えば、リポポリアミン法、DEAE-デキストラン法、ハナハン法、リポフェクチン法、リン酸カルシウム法によるトランスフェクション、マイクロインジェクションおよびエレクトロポレーション等の方法 (Molecular Cloning, 10 A Laboratory Manual, second edition) がある。インビトロパッケージングは、市販のキット (Stratagene社製、Amersham社製) を用いることによって簡便に行うことができる。

上記方法によって作製されたcDNAライブラリーから、CL-L2 sタンパク質をコードするcDNAを単離する方法は、一般的なcDNA 15 Aスクリーニング方法を組み合わせて行うことができる。例えば、<sup>32</sup>Pで標識したプローブを作製し、コロニーハイブリダイゼーション法 (Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 72, 3961, 1975)、ブランクハイブリダイゼーション法 (Molecular Cloning, A Laboratory Manual, second edition, Cold Spring Harbor Laboratory, 2, 108, 1989) により目的のcD 20 NAを含有するクローンをスクリーニングすることができる。また、PCR法によりクローンを選択することもできる。さらに、cDNAを発現しうるベクターを用いてcDNAライブラリーを作製した場合には、CL-L2 sを認識する抗体を用いることにより目的のクローンを選択することができる。

25 また、CL-L2 s遺伝子を発現する細胞よりCL-L2 s遺伝子を単離する際には、例えば、該発現細胞をSDSまたはプロテナーゼKを

用いて溶解し、フェノール処理を行う。不用のRNAをリボヌクレアーゼにより消化する。得られるDNAを制限酵素により消化し、得られるDNA断片をファージまたはコスミドで増幅してライブラリーを作製する。その後、目的のクローンを選択し、CL-L2s遺伝子を取得することができる。

この様にして得られたDNAの塩基配列はマキシム・ギルバート法 (Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 74, 560, 1977) またはサンガー法 (Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 74, 5463, 1977) によって決定することができる。CL-L2s遺伝子は、上記得られたクローンから制限酵素等によって切り出すことにより得ることができる。

CL-L2塩基配列をもとに合成したプライマーを用いて、CL-L2s発現細胞ポリ(A)<sup>+</sup>RNAを鋳型にしてRT-PCR法によりクローニングすることも可能である。また、PCRによらず、CL-L2s塩基配列をもとにプローブを作製・合成し、直接cDNAライブラリーをスクリーニングし、目的とするcDNAを得ることもできる。本発明の遺伝子を、これらの方法により得られた遺伝子の中から、その遺伝子の塩基配列を確認することにより選択することができる。本発明の遺伝子は、例えばホスホイミダイト法 (Mattencci, M. D. et al., J. Am. Chem. Soc., 130, 3185, 1981) 等の核酸化学合成を用いる常法に従って製造することもできる。

#### 発現ベクターの作製方法

本発明はまた、CL-L2s核酸配列を含むことを特徴とするベクターにも関する。ベクターは例えば、CL-L2sタンパク質を発現することができるものであれば特に制限されないが、プラスミドベクター、RNAベクター、DNAベクター、ウィルスベクター、ファージベクター等を用いることができる。具体的には、Invitrogen社製のpBAD/

H i s、p R S E T A、p c D N A 2. 1、p T r c H i s 2 A、p Y  
E S 2、p B l u e B a c 4. 5、p c D N A 3. 1、p S e c T a g 2、Novagen社製  
のp E T、p B A C、Promega社製のp G E M、Stratagene社製のp B l u e s  
c r i p t I I、p B S、Phagescript、p S G、p S V 2 C A TもしくはFarma  
5 c i a社製のp G E X、p U C 1 8 / 1 9、p B P V、p S V K 3、p S V  
L等が挙げられる。

発現ベクターにライゲーションしたC L - L 2 s c D N A配列は、プ  
ロモーターに機能的に連結させる。プロモーターは例えば、ファージλ  
P Lプロモーター、E. coli l a c、t r p、t a cプロモーター、S V  
10 4 0 初期および後期プロモーター、T 7 およびT 3プロモーター、レト  
ロウィルスL T Rプロモーターが挙げられる。特に、真核細胞に使用する  
プロモーターとしては、C M Vプロモーター、H S Vプロモーター、  
S V 4 0 初期および後期プロモーター、レトロウィルスL T Rプロモ  
ーター、R S Vプロモーター、メタロチオネインプロモーターがある。ま  
15 た、発現ベクターは、形質転換した宿主を選択可能にすべきマーカーお  
よびエンハンサーを含有しても良い。マーカーには、ジヒドロ葉酸還元  
酵素遺伝子、ネオマイシン耐性遺伝子、アンピシリン耐性遺伝子等があ  
る。エンハンサーには、S V 4 0 エンハンサー、サイトメガロウィルス  
初期エンハンサープロモーター、アデノウィルスエンハンサー等がある。

## 20 形質転換細胞の作製方法

さらに、本発明は上記したようなベクターによりこれらが保持する本  
発明の塩基配列を発現可能に保持する形質転換細胞を提供する。本明細  
書における形質転換細胞に用いる宿主細胞としては、好ましくは動物細  
胞および昆虫細胞であるが、本発明の発現ベクター中のC L - L 2 s タ  
25 ンパク質を発現することが可能な全ての細胞（微生物を含む）が挙げら  
れる。

本明細書における動物細胞もしくは昆虫細胞としては、それぞれヒト由来の細胞、ハエもしくはカイコ由来の細胞が挙げられる。例えば、CHO細胞、COS細胞、BHK細胞、Vero細胞、ミエローマ細胞、HEK 293細胞、HeLa細胞、Jurkat細胞、マウスL細胞、マウス  
5 C127細胞、マウスFM3A細胞、マウス繊維芽細胞、骨芽細胞、軟骨細胞、S2、Sf9、Sf21、High Five（登録商標）細胞等がある。本明細書における微生物とは、大腸菌もしくは酵母等が含まれる。これら宿主への導入は上記記載した方法を用いることができる。

本発明のCL-L2s発現細胞は、感染症、免疫等に関わるコレクチン経路を解析するために用いることができる。また、CL-L2sタンパク質または糖鎖のあるCL-L2sタンパク質の製造に利用することができる。CL-L2sタンパク質に対するアゴニストまたはアンタゴニストの取得のためのスクリーニングにも利用できる。

#### タンパク質取得方法

15 本発明は、上記したような本発明の塩基配列で形質転換した細胞を培養し、産生されたCL-L2sを採取する、CL-L2sタンパク質の製造法にも関する。細胞の培養、タンパク質の分離、精製も、自体公知の方法によって行うことができる。

本発明のタンパク質は、それ自体、単離・精製・認識しやすいように  
20 組換え融合タンパク質として発現させることができる。組換え融合タンパク質とは目的タンパク質をコードする核酸配列により発現されたタンパク質のN末端側または／およびC末端側に適当なペプチド鎖を付加して発現させたタンパク質である。発現したタンパク質の精製を容易にする目的で、細胞外分泌シグナルを有する融合タンパク質として発現させても良い。また、タンパク質は、各種原料、例えば培養細胞、培養組織、  
25 形質転換細胞等のタンパク質産生原料から従来公知の方法、例えば硫酸

アンモニウム沈殿法等の塩析、セファデックス等によるゲル濾過法、イオン交換クロマトグラフィー法、疎水性クロマトグラフィー法、色素ゲルクロマトグラフィー法、電気泳動法、透析、限外濾過法、アフィニティークロマトグラフィー法および高速液体クロマトグラフィー法等の公知の精製方法を用いて得ることができる。

#### 遺伝子利用方法

配列番号 1、3、5、7、9、12、36、38 もしくは 40、配列番号 48（配列番号 1 の塩基番号 601～1077 に相当）または配列番号 12 の塩基番号 493～969 のいずれかに記載の塩基配列に基づいて、CL-L2s 遺伝子を検出するためのプローブを設定することができる。あるいは、これらの塩基配列を含む DNA や RNA を増幅するためのプライマーを設定することができる。与えられた配列をもとにプローブやプライマーを設定することは、当業者が日常的に行っている。設定された塩基配列を有するオリゴヌクレオチドを化学合成によって得ることができる。そしてそのオリゴヌクレオチドに適切な標識を付加すれば、様々な形式のハイブリダイゼーションアッセイに利用することができる。あるいは PCR の様な核酸の合成反応に利用することができる。プライマーに利用するオリゴヌクレオチドは少なくとも 10 塩基、好適には 15～50 塩基の長さとするのが望ましく、プローブに利用するオリゴヌクレオチドは 100 塩基から全長の長さであることが望ましい。

また、CL-L2s タンパク質をコードする遺伝子変異の検出および SNP の検出等にも用いることができことから、CL-L2s 遺伝子変異によって生ずる疾患の診断に用いることができる。例えば、細菌感染症等を始めとする各種疾患等の診断に利用できるものと予想される。また、CL-L2s 遺伝子を生体内に導入し発現させることによる遺伝子治療にも有用である。

さらに、本発明が提供するCL-L2sのcDNA塩基配列に基づいて、ゲノム中に存在するCL-L2s遺伝子のプロモーター領域、エンハンサー領域を取得することも可能である。具体的には特開平6-181767号、J. Immunol., 155, 2477, 1995、Proc. Natl. Acad. Sci, USA., 92, 3561, 1995) 等と同様の方法でこれらの制御領域の取得が可能である。本明細書中で言うプロモーター領域とは転写開始部位の上流に存在する遺伝子の発現を制御するDNA領域を、エンハンサー領域とはイントロン、5'非翻訳領域、または3'非翻訳領域に存在する遺伝子の発現を増強するDNA領域を言う。

#### 10 タンパク質利用方法

本発明のCL-L2sタンパク質は、基礎免疫の機能の解明、細菌感染症等を始めとする各種疾患等の発症機構の解明、さらにその診断、予防および治療法、並びにそれらのための試薬や医薬の開発に利用できる可能性がある。また、CL-L2sに対する抗体を作製する際の抗原として用いることができる。さらに、アゴニストまたはアンタゴニストのスクリーニング方法にも利用できる。

#### アゴニストおよびアンタゴニスト

本発明は、また、本発明のCL-L2sの活性または活性化を刺激するアゴニストにも関する。本発明は、また、本発明のCL-L2sの活性または活性化を阻害するアンタゴニストにも関する。アンタゴニストのスクリーニングは、例えば、CL-L2sタンパク質を発現させた細胞に候補阻害剤とマンノースまたは抗体を作用させる競合的実験系を用いることができ、マンノースとの結合割合から候補阻害剤をスクリーニングすることができる。その他、自体公知の方法により行うことができる。また、アンタゴニストにはCL-L2s遺伝子の発現を阻害するアンチセンス核酸も含まれる。他のスクリーニング方法として、受容体の

活性化によって生じる細胞外 pH の変化を測定する方法 (Science, 246, 181-296, 1989) などを挙げることもできる。

### トランスジェニック非ヒト動物

本発明は、CL-L2s 遺伝子の発現レベルを変化させたトランスジェニック非ヒト動物に関する。ここで、CL-L2s 遺伝子とは、hCL-L2s もしくは mCL-L2s をコードする cDNA、ゲノム DNA あるいは合成 DNA を含む。また、遺伝子の発現には転写と翻訳のいずれのステップも含まれる。本発明によるトランスジェニック非ヒト動物は、CL-L2 の機能あるいは発現調節の研究、CL-L2s が関与すると予想される疾患のメカニズム解明、医薬品のスクリーニング・安全性試験に用いる疾患モデル動物の開発に有用である。

本発明においては、遺伝子の発現を正常に調節しているいくつかの重要な部位（エンハンサー、プロモーター、イントロン等）の一部に欠失、置換、付加および／または挿入などの変異を起こさせることにより、本来の遺伝子の発現レベルと比較して上昇または下降するように人工的に修飾することができる。この変異の導入は、公知の方法により行うことができ、トランスジェニック動物を得ることができる。

トランスジェニック動物とは狭義には遺伝子組換えにより、外来遺伝子が生殖細胞に人為的に導入された動物のことをいい、広義にはアンチセンス RNA を用いて特定の遺伝子の機能を抑えたアンチセンス・トランスジェニック動物や、胚性幹細胞（ES 細胞）を用いて特定の遺伝子をノックアウトした動物、点突然変異 DNA を導入した動物を含み、個体発生の初期に外来遺伝子が安定して染色体に導入され、その子孫に遺伝形質として伝達され得る動物のことをいう。

本明細書中でいうトランスジェニック動物とはヒト以外のすべての脊椎動物を含む広義の意味に解する。本発明におけるトランスジェニック

動物は、CL-L2sの機能あるいは発現調節の研究、ヒトにおいて発現している細胞に関連する疾患のメカニズムの解明、医薬品のスクリーニング・安全性試験に用いる疾患モデル動物の開発に有用である。

トランスジェニック動物の作製方法は、位相差顕微鏡下で前核期卵子の核に、微小ピペットで遺伝子を直接導入する方法（マイクロインジェクション法、米国特許第4873191号）、胚性幹細胞（ES細胞）を使用する方法などがある。その他、レトロウィルスベクターまたはアデノウィルスベクターに遺伝子を挿入し、卵子に感染させる方法、また、精子を介して遺伝子を卵子に導入する精子ベクター法等が開発されている。

精子ベクター法とは、精子に外来遺伝子を付着またはエレクトロポレーション等の方法で精子細胞内に取り込ませた後に、卵子に受精させることにより、外来遺伝子を導入する遺伝子組換え法である（M. Lavitran et al., Cell, 57, 717, 1989）。あるいはバクテリオファージP1のcre/loxPリコンビナーゼ系やサッカロマイセス・セレビシアエ（*Saccharomyces cerevisiae*）のFLPリコンビナーゼ系等によるin vivoにおける部位特異的遺伝子組換えを用いることもできる。また、レトロウィルスを使用して、非ヒト動物へ目的タンパク質のトランスジーンを導入する方法も報告されている。

マイクロインジェクション法によるトランスジェニック動物作製方法は、例えば、以下に示すようにして行われる。

まず、発現制御に関わるプロモーター、特定のタンパク質をコードする遺伝子、ポリAシグナルから基本的に構成されるトランスジーンが必要である。プロモーター活性により特定分子の発現様式や発現量が左右され、また、導入トランスジーンのコピー数や染色体上の導入部位により作製されたトランスジェニック動物が系統間で異なるため、各系統間

で発現様式・発現量を確認する。非翻訳領域やスプライシングにより発現量が変化することが判明しているため、予めポリAシグナルの前にスプライシングされるイントロン配列を導入してもよい。受精卵に導入する遺伝子はできるだけ純度の高いものを使用することが重要である。使用する動物としては、受精卵採取用マウス（5～6週齢）、交配用雄マウス、偽妊娠雌マウス、輸精管結紮雄マウス等が用いられる。

効率よく受精卵を得るために、ゴナドトロピン等により排卵を誘発してもよい。受精卵を回収し、マイクロインジェクション法にて卵子の雄性前核にインジェクションピペット中の遺伝子を注入する。注入した卵子を輸卵管に戻すための動物（偽妊娠雌マウス等）を用意し、一匹に対して約10～15個を移植する。その後、誕生したマウスにトランスジェンが導入されているか否かを、尾の先端部からゲノムDNAを抽出し、サザン法あるいはPCR法によりトランスジェンを検出するか、あるいは相同組み換えが起こったときのみに活性化するマーカー遺伝子を挿入したポジティブクローニング法により確認することができる。さらに、トランスジェンの発現を確認するため、ノザン法もしくはRT-PCR法によりトランスジェン由来転写産物を検出する。または、タンパク質またはその断片に対する特異的抗体によって、ウェスタンブロッティングを行ってもよい。

## 20 ノックアウトマウス

本発明のノックアウトマウスは、CL-L2s遺伝子の機能が失われるように処理されたものである。ノックアウトマウスとは相同組換え技術により任意の遺伝子を破壊し、機能を欠損させたトランスジェニックマウスをいう。ES細胞を用いて相同組換えを行い、一方の対立遺伝子を改変・破壊した胚性幹細胞を選別し、ノックアウトマウスを作製することができる。例えば、受精卵の胚盤胞や桑実胚期に遺伝子を操作した

胚性幹細胞を注入して、胚性幹細胞由来の細胞と胚由来の細胞が混ざったキメラマウスを得る。このキメラマウス（キメラとは、2個以上の受精卵に基づいた体細胞で形成される単一個体をいう）と正常マウスを交配すると、一方の対立遺伝子の全てが改変・破壊されたヘテロ接合体マウス  
5 を作製することができる。さらに、ヘテロ接合体マウス同士を交配することで、ホモ接合体マウスが作製できる。

相同組換えとは、遺伝子組換え機構で塩基配列が同じ、または非常に類似している2つの遺伝子間で起こる組換えのことをいう。相同組換えを起こした細胞の選別にはPCRを使用することができる。挿入遺伝子  
10 の一部と挿入が期待される領域の一部をプライマーとして用いるPCRを行い、増幅産物ができた細胞で相同組換えを起こしていることが判明できる。また、胚幹細胞で発現している遺伝子に相同組み換えを起こさせる場合には、導入遺伝子にネオマイシン耐性遺伝子を結合させておき、導入後に細胞をネオマイシン耐性にさせることにより選択することが  
15 できる等、公知の方法およびそれらの変法を用いて容易に選択することができる。

#### 抗体の作製方法

本発明はまた、CL-L2sまたはその断片を認識する抗体を提供する。本発明の抗体には例えば、配列番号2、4、6、8、10、13、  
20 37、39もしくは41、配列番号47（配列番号2のアミノ酸番号113～271）または配列番号13のアミノ酸番号113～271のアミノ酸配列を有するタンパク質またはその断片に対する抗体が含まれる。CL-L2sまたはその断片に対する抗体（例えばポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、ペプチド抗体）または抗血清は、本発明のCL-L  
25 L2sまたはの断片等を抗原として用い、自体公知の抗体または抗血清の製造法に従って製造することができる。特に、CL-L2sの機能を

制御できる抗体（例えばCRDおよびコラーゲン様ドメイン等を認識する抗体）は抗体含有医薬品として有用である。

本発明のCL-L2sまたはその断片は、投与により抗体産生が可能な部位にそれ自体または希釈剤、担体と共に温血動物に対して投与される。投与に際して抗体産生を高めるために、完全フロイントアジュバントや不完全フロイントアジュバントを投与しても良い。投与は通常1～6週毎に1回ずつ、計2～10回程度行われる。用いられる温血動物としては、例えばサル、ウサギ、イヌ、モルモット、マウス、ラット、ヒツジ、ヤギ、ニワトリ等が挙げられるが、マウスおよびラットが好ましくは用いられる。ラットにはWistarおよびSD系ラット等が好ましく、マウスにはBALB/c、C57BL/6およびICR系マウス等が好ましく用いられる。

モノクローナル抗体産生細胞の作製に際しては、抗原で免疫された温血動物、例えばマウスから抗体価の認められる個体を選択し、最終免疫の2～5日後に脾臓またはリンパ節を採取し、それらに含まれる抗体産生細胞を骨髓腫細胞と融合させることにより、モノクローナル抗体産生ハイブリドーマを調製することができる。抗血清中の抗体価の測定は、例えば後記の標識化CL-L2sと抗血清とを反応させた後、抗体に結合した標識剤の活性を測定することによりなされる。融合操作は既知の方法、例えばケーラーとミルスタインの方法（Nature, 256, 495, 1975）やその変法（J. Immunol. Method, 39, 285, 1980、Eur. J. Biochem., 118, 437, 1981、Nature, 285, 446, 1980）に従い実施できる。融合促進剤としてはポリエチレングリコール（PEG）やセンダイウィルス等が挙げられるが、好ましくはPEGが用いられる。さらに融合効率を高めるために、適宜レクチン、ポリ-L-リジンもしくはDMSOを添加することもできる。

骨髓腫細胞としては例えばX-63Ag8、NS-1、P3U1、SP2/0、AP-1等が挙げられるが、好ましくはSP2/0が用いられる。用いられる抗体産生細胞（脾臓細胞）数と骨髓腫細胞数との好ましい比率は1:20~20:1であり、PEG（好ましくはPEG1000~PEG6000）を10~80%程度の濃度で添加し、20~40℃、好ましくは30~37℃で1~10分間インキュベートすることにより効率よく細胞融合を実施できる。抗CL-L2s抗体産生ハイブリドーマのスクリーニングには種々の方法が使用できるが、例えば、CL-L2s抗原を直接または担体と共に吸着させた固相（例えば、マイクロプレート）にハイブリドーマ培養上清を添加し、次に放射性物質や酵素などで標識した抗免疫グロブリン抗体（細胞融合に用いられる細胞がマウスの場合、抗マウス免疫グロブリン抗体が用いられる）またはプロテインAを加え、固相に結合した抗CL-L2s抗体を検出する方法、抗免疫グロブリン抗体またはプロテインAを吸着させた固相にハイブリドーマ培養上清を添加し、放射性物質や酵素等で標識したCL-L2sを加え、固相に結合した抗CL-L2sモノクローナル抗体を検出する方法等が挙げられる。

抗CL-L2sモノクローナル抗体の選別およびクローニングは、自体公知またはそれに準じる方法に従って行うことができる。通常HAT（ヒポキサンチン、アミノプテリンおよびチミジン）を添加した動物細胞用培地で行われる。選別、クローニングおよび育種用培地としては、ハイブリドーマが生育できるものならばどのような培地を用いても良い。例えば、1~20%、好ましくは10~20%の牛胎児血清を含むRPMI培地、1~10%の牛胎児血清を含むGIT培地、またはハイブリドーマ培養用無血清培地等を用いることができる。培養温度は、好ましくは約37℃である。培養時間は、通常5日~3週間、好ましくは1週

間～2週間である。培養は、通常5%炭酸ガス下で行われる。ハイブリドーマ培養上清の抗体価は、上記の抗血清中の抗CL-L2s抗体価の測定と同様にして測定できる。すなわち、測定方法としてはラジオイムノアッセイ(RIA)法、酵素免疫測定法(ELISA)法、FIA(蛍光イムノアッセイ)法、プラーク測定法、凝集反応法等を用いることができるが、以下に示すようなELISA法が好ましい。

ELISA法によるスクリーニングは以下の方法に準じて行うことができる。免疫抗原と同様の操作で調製したタンパク質をELISAプレートの各ウェルの表面に固定化する。次に、非特異的吸着を防止する目的で、BSA、MSA、OVA、KLH、ゼラチンもしくはスキムミルク等を各ウェルに固定化する。この各ウェルにハイブリドーマ培養上清液を添加し、一定時間放置し免疫反応を行わせる。PBS等を洗浄液として各ウェルを洗浄する。この洗浄液中には界面活性剤を添加することが好ましい。酵素標識二次抗体を添加し一定時間放置する。標識酵素としては、 $\beta$ -ガラクトシダーゼ、アルカリフォスファターゼ、ペルオキシダーゼ等を用いることができる。同じ洗浄液で各ウェルを洗浄後、使用した標識酵素の基質溶液を添加し酵素反応を行わせる。添加したハイブリドーマ培養上清液中に目的とする抗体が存在する場合は酵素反応が進行し基質溶液の色が変化する。

クローニングは、通常半固体アガー法や限界希釈法等のそれ自体公知の方法で行うことができ、具体的には前記の方法で目的とする抗体を産生するウェルを確認した後、クローニングを行いシングルクローンを得る。クローニング法としては、培養プレート1ウェルあたりに1個のコロニーが形成するようにハイブリドーマ細胞を希釈して培養する限界希釈法等を用いると良い。限界希釈法によるクローニングには、コロニー形成能と高めるために支持細胞を用いるか、インターロイキン6などの

細胞増殖因子を添加しても良い。その他、FACSおよびシングルセルマニプレーション法を用いてクローニングすることができる。クローン化されたハイブリドーマを、好ましくは無血清培地中で培養し、至適量の抗体をその上清に加える。この様にして得られた単一のハイブリドーマは、5 フラスコや細胞培養装置を用いて大量培養を行うか、動物の腹腔内で培養する (J. Immunol. Meth., 53, 313, 1982) ことにより、モノクローナル抗体を得ることができる。フラスコ内で培養を行う場合は、0~20%のFCSを含む細胞培養用培地 (IMDM、DMEM、RPMI 1640 およびMEM等) を用いて行うことができる。動物の腹腔10 内で培養する場合は、細胞融合に使用した骨髓腫細胞の由来となった動物と同種、同系統の動物または胸腺欠損ヌードマウス等を使用することが好ましく、予めプリスタン等の鉱物油を投与してからハイブリドーマを移植する。1~2週間後腹腔内に骨髓腫細胞が増殖し、モノクローナル抗体を含む腹水を得ることができる。

- 15 本発明によるモノクローナル抗体は、CL-L2sに特異的なエピトープを認識するものを選択することによって、他のタンパク質と交差しないものとすることができる。一般的にそのタンパク質を構成するアミノ酸配列の中から、連続する少なくとも5以上のアミノ酸残基、望ましくは7~20アミノ酸のアミノ酸配列によって提示されるエピトープは、20 そのタンパク質に固有のエピトープを示すと言われている。従って、例えば配列番号2、4、6、8、10、13、37、39もしくは41、配列番号47 (配列番号2のアミノ酸番号113~271に相当) または配列番号13のアミノ酸番号113~271のアミノ酸配列を有するタンパク質またはその断片のいずれかに記載されたアミノ酸から選択され、かつ連続する少なくとも5アミノ酸残基から成るアミノ酸配列を持つ25 ペプチドによって構成されるエピトープを認識するモノクローナル抗

体は、本発明におけるhCL-L2sもしくはmCL-L2s特異的なモノクローナル抗体といえる。配列番号2、4、6、8、10、13、37、39もしくは41に記載されたアミノ酸配列の間で保存されたアミノ酸配列を選べば、CL-L2sに共通のエピトープを選択することができる。あるいは各配列に特異的なアミノ酸配列を含む領域であれば、それぞれのタンパク質の識別が可能なモノクローナル抗体を選択することができる。

抗CL-L2sモノクローナル抗体の分離精製は、通常のポリクローナル抗体の分離精製と同様に免疫グロブリンの分離精製法に従って行うことができる。公知の精製法としては、例えば、塩析法、アルコール沈殿法、等電点沈殿法、電気泳動法、硫酸沈殿法、イオン交換体（例えばDEAE）による吸脱着法、超遠心法、ゲル濾過法、抗原結合固相またはプロテインAもしくはプロテインG等の活性吸着剤により抗体のみを採取し、結合を解離させて抗体を得る特異的精製法のような手法を施すことができる。精製過程において凝集物の形成や抗体価の低下を防止する目的で、例えばヒト血清アルブミンを0.05～2%の濃度で添加する。その他、グリシン、 $\alpha$ -アラニン等のアミノ酸類、特にリジン、アルギニンおよびヒスチジン等の塩基性アミノ酸、グルコースやマンニトール等の糖類または塩化ナトリウム等の塩類を添加しても良い。IgM抗体の場合、特に凝集しやすいことが知られているため、 $\beta$ -プロピオニラクトンおよび無水酢酸で処理しても良い。

本発明のポリクローナル抗体は、それ自体公知あるいはそれに準じる方法に従って製造することができる。例えば、免疫抗原（タンパク質抗原）自体、あるいはそれとキャリアタンパク質との複合体を作り、上記のモノクローナル抗体の製造法と同様に温血動物に免疫を行い、該免疫動物から本発明のタンパク質またはその断片に対する抗体含有物を採

取して、抗体の分離精製を行うことにより製造することができる。温血動物を免役するために用いられる免疫抗原とキャリアタンパク質との複合体に関し、キャリアタンパク質の種類およびキャリアーとハプテンとの混合比は、キャリアーに架橋させて免役したハプテンに対して抗体が効率よくできれば、どの様なものをどの様な比率で架橋させても良いが、例えばウシ血清アルブミンやウシサイログロブリン、ヘモシアニン等を重量比でハプテン1に対し、約0.1～20、好ましくは約1～5の割合でカップリングさせる方法が用いられる。また、ハプテンとキャリアーのカップリングには、種々の縮合剤を用いることができるが、

5   グルタルアルデヒドやカルボジイミド、マレイミド活性エステル、チオール基、ジチオピリジル基を含有する活性エステル試薬などが用いられる。縮合生成物は、温血動物に対して、抗体産生が可能な部位にそれ自体あるいは担体、希釈剤と共に投与される。投与に際して抗体産生能を高めるため、完全フロイントアジュバントや不完全フロイントアジュバントを投与しても良い。投与は、通常2～6週毎に1回ずつ、計約3～

10   10回程度行われる。ポリクローナル抗体は上記の方法で免役された温血動物の血液、腹水等、好ましくは血液から採取することができる。抗血清中のポリクローナル抗体価の測定は、上記血清中の抗体価の測定と同様にして測定できる。ポリクローナル抗体の分離精製は、上記のモノ

15   クローナル抗体の分離精製と同様の免疫グロブリンの分離精製法に従って行うことができる。

#### 抗体の利用方法

CL-L2sまたはその断片に対するモノクローナル抗体ならびにポリクローナル抗体は、CL-L2sを発現している細胞に関連する疾病

25   の診断や治療に利用することが可能である。これらの抗体を用いて、本発明のCL-L2sまたはその断片との免疫学的な結合に基づき、CL

—L 2 s またはその断片を測定することができる。具体的にこれらの抗体を用いて C L — L 2 s またはその断片を測定する方法としては、例えば、不溶性担体に結合させた抗体と標識化抗体とにより C L — L 2 s またはその断片を反応させて生成したサンドイッチ錯体を検出するサンド  
5 イッチ法、また、標識化 C L — L 2 s と検体中の C L — L 2 s またはその断片を抗体と競合的に反応させ、抗体と反応した標識抗原量から検体中の C L — L 2 s またはその断片を測定する競合法を利用して検体中の C L — L 2 s またはその断片を測定する方法が挙げられる。

サンドイッチ法による C L — L 2 s またはその断片の測定においては、  
10 まず、固定化抗体と C L — L 2 s またはその断片とを反応させた後、未反応物を洗浄によって完全に除去し、標識化抗体を添加して固定化抗体—C L — L 2 s 標識化抗体を形成させる 2 ステップ法もしくは固定化抗体、標識化抗体および C L — L 2 s またはその断片を同時に混合する 1 ステップ法などを用いることができる。

15 測定に使用される不溶性担体は、例えばポリスチレン、ポリエチレン、ポリプロピレン、ポリ塩化ビニル、ポリエステル、ポリアクリル酸エステル、ナイロン、ポリアセタール、フッ素樹脂等の合成樹脂、セルロース、アガロース等の多糖類、ガラス、金属等が挙げられる。不溶性担体の形状としては、例えばトレイ状、球状、繊維状、棒状、盤状、容器状、  
20 セル、試験管等の種々の形状を用いることができる。抗体を吸着した担体は、適宜アジ化ナトリウム等の防腐剤の存在下、冷所に保存する。

抗体の固着化には、公知の化学的結合法または物理的吸着法を用いることができる。化学的結合法としては例えばグルタルアルデヒドを用いる方法、N—スクシニイミジル—4—(N—マレイミドメチル)シクロ  
25 ヘキサン—1—カルボキシレートおよびN—スクシニイミジル—2—マレイミドアセテートなどを用いるマレイミド法、1—エチル—3—(3

ージメチルアミノプロピル) カルボジイミド塩酸などを用いるカルボジイミド法が挙げられる。その他、マレイミドベンゾイルーN-ヒドロキシサクシニミドエステル法、N-サクシミジル-3-(2-ピリジルジチオ)プロピオン酸法、ビスジアゾ化ベンジジン法、ジバルミチルリジン法が挙げられる。あるいは、先に被検出物質とエピトープの異なる2種類の抗体を反応させて形成させた複合体を、抗体に対する第3の抗体を上記の方法で固着化させておいて捕捉することも可能である。

標識物質としては、酵素、蛍光物質、発光物質、放射性物質および金属キレート等を使用するのが好ましい。酵素としては、例えばペルオキシダーゼ、アルカリフォスファターゼ、 $\beta$ -D-ガラクトシダーゼ、リンゴ酸デヒドロゲナーゼ、ブドウ球菌ヌクレアーゼ、デルター5-ステロイドイソメラーゼ、 $\alpha$ -グリセロールホスフェートデヒドロゲナーゼ、トリオースホスフェートイソメラーゼ、西洋わさびパーオキシダーゼ、アスパラギナーゼ、グルコースオキシダーゼ、リボヌクレアーゼ、ウレアーゼ、カタラーゼ、グルコース-6-ホスフェートデヒドロゲナーゼ、グルコアミラーゼ、アセチルコリンエステラーゼ等が挙げられ、蛍光物質としては、例えばフルオレセインイソチアネート、フィコビリプロテイン、ローダミン、フィコエリトリン、フィコシアニン、アロフィコシアニン、オルトフタルアルデヒド等が挙げられ、発光物質としてはイソルミノール、ルシゲニン、ルミノール、芳香族アクリジニウムエステル、イミダゾール、アクリジニウム塩およびその修飾エステル、ルシフェリン、ルシフェラーゼ、エクオリン等が挙げられ、放射性物質としては $^{125}\text{I}$ 、 $^{127}\text{I}$ 、 $^{131}\text{I}$ 、 $^{14}\text{C}$ 、 $^3\text{H}$ 、 $^{32}\text{P}$ 、 $^{35}\text{S}$ 等が挙げられるが、これらに限らず免疫学的測定法に使用することができるものであれば特に限定されない。さらに、抗体にビオチン、ジニトロフェニル、ピリドキサー

25 ルまたはフルオレサミンの様な低分子ハプテンを結合させても良い。好

ましくは西洋わさびペルオキシダーゼを標識化酵素として用いる。本酵素は多くの基質と反応することができ、過ヨウ素酸法によって容易に抗体に結合させることができる。

標識化剤が酵素である場合には、その活性を測定するために基質、必要により発色剤を用いる。酵素としてペルオキシダーゼを用いる場合には、基質溶液として $H_2O_2$ を用い、発色剤として2, 2'-アジノージ- [3-エチルベンズチアゾリンスルホン酸] アンモニウム塩 (ABTS)、5-アミノサリチル酸、オルトフェニレンジアミン、4-アミノアンチピリン、3, 3', 5, 5'-テトラメチルベンジジン等を使用することができ、酵素にアルカリフォスファターゼを用いる場合は基質としてオルトニトロフェニルフォスフェート、パラニトロフェニルリン酸等を使用することができ、酵素に $\beta$ -D-ガラクトシダーゼを用いる場合は基質としてフルオレセイン- $\beta$ -D-ガラクトピラノシド、4-メチルウンベリフェニル- $\beta$ -D-ガラクトピラノシド等を使用することができる。本発明には、また、前述のモノクローナル抗体、ポリクローナル抗体および試薬類をキット化したものも含まれる。

架橋剤としては、N, N'-オルトフェニレンジマレイミド、4-(N-マレイミドメチル)シクロヘキサン酸・N-スクシンイミドエステル、6-マレイミドヘキサン酸・N-スクシンイミドエステル、4, 4'-ジチオピリジン、その他公知の架橋剤が利用可能である。これらの架橋剤と酵素および抗体との反応は、それぞれの架橋剤の性質に応じて既知の方法に従って行えばよい。また、抗体としては、場合によっては、そのフラグメント、例えばFab', Fab、F(ab')<sub>2</sub>を用いる。また、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体にかかわらず同様の処理により酵素標識体を得ることができる。上記架橋剤を用いて得られる酵素標識体をアフィニティークロマトグラフィー等の公知の方法にて精

製すれば、更に感度の高い免疫測定系が可能となる。精製した酵素標識化抗体は、安定剤としてチメロサルもしくはグリセリン等を加えて、あるいは凍結乾燥して冷暗所に保存する。

- 測定対象は、血漿、血清、血液、尿、組織液、脳脊髄液等の体液、
- 5 各種細胞、組織等、C L - L 2 s を含む試料であれば限定されない。

#### ヒト化抗体の作製方法

- ヒトに任意の抗原を免疫して抗体を製造することは倫理上不可能である。また、マウスモノクローナル抗体をヒトの体内に投与すると、ヒトにとっては異種タンパクであるので種々の副作用が起こる危険性がある。
- 10 そこで、ヒトに抗体を投与する場合にはヒトに対し抗原性を低くした抗体が好ましい。

- ヒトモノクローナル抗体の作製方法には細胞融合法以外にも、エプスタイン・バール (Epstein-Barr) ウィルス (E B V) で形質転換する方法、さらにはその形質転換した細胞を親細胞と融合させる方法、遺伝子工学を利用しキメラ抗体、ヒト化抗体を作製する方法などがある。キメラ抗体とは異種の動物の免疫グロブリン遺伝子断片をつなげて作製された抗体であり、ヒト化抗体とはマウスなどにヒトにとって異種の抗体を改変して、H鎖とL鎖の相補性決定部 (C D R) 以外の一次構造をヒトの抗体の対応する一次構造に置換した抗体をいう。
- 15

- 20 キメラ抗体の作製方法として、まずマウスに免疫し、そのマウスモノクローナル抗体の遺伝子から抗原と結合する抗体可変部 (V領域) を切り出し、ヒト骨髓腫由来の抗体定常部 (C領域) 遺伝子と結合してキメラ遺伝子を作製する。このキメラ遺伝子を宿主細胞で発現させれば、ヒト・マウス・モノクローナル抗体が産生できる。キメラ抗体はヒトに対する抗原性が少ないため、ヒト体内に投与する治療用や画像診断用モノクローナル抗体等として利用できる。公知のキメラ抗体の関連技術とし
- 25

て、特開平05-304989号、特開平04-330295号、W09106649、特開昭63-036786号、特公平06-98021号等がある。

また、最近キメラ抗体よりも有用であるといわれるヒト化抗体が開発  
5 された。ヒト化抗体とは抗体分子の抗原結合部位（CDR：Complementary determining reagon、相補性決定領域）の遺伝子配列のみをヒト抗体遺伝子に移植（CDRグラフティング）し、抗体分子のCDRを除いた全分子をヒト化した抗体である。本抗体はヒト・マウス・キメラ抗体より、マウスの抗体部分が少ないため、抗原性が少なく安全性が高いと  
10 言われている。ヒトモノクローナル抗体作製の親細胞は、ヒト/マウスのヘテロミエローマであるSHM-D 33株（ATCC CRL 1668）またはRF-S1株を用いるとマウスの親細胞と同等の高い融合効率を得られる。これらの親細胞を用いて得られたハイブリドーマはフィーダー細胞なしでクローニングが可能であり、IgGタイプの抗体  
15 を比較的安定にしかも大量に産生することができる。親細胞の培養には、15% FCSを加えたERDF培地を用い、その他の操作はマウスの場合と同様である。また、IgGタイプのヒトモノクローナル抗体を作製するには抗原で十分に感作されたヒトリンパ球を末梢血から採取して用いるのが好ましい。十分に抗原で感作されたリンパ球の取得が困難な場  
20 合にはin vitroで抗原感作を行うこともできる。我が国では現在、成人性T細胞白血病に対するヒト化抗体の臨床試験が行われている。ヒト化抗体の製造方法およびその関連技術については、米国Genentech社（W09222653、W09845332、W09404679、W09837200、W09404679、）および英国Cell  
tech社（W09429451、W09429351、W09413805、W09306231、W09201059、W0  
25 9116927、W09116928、W09109967、W08901974、W08901783）等が特許出願  
している。

上記示した方法等を用いることにより、本発明の抗体をヒト化することができ、ヒトに投与する場合には非常に有用である。

### 組成物

CL-L2s ポリヌクレオチドまたはタンパク質は、細菌感染症等を  
5 始めとする各種疾患等の診断、予防および治療法、並びにそれらのための試薬や医薬の開発に利用できる可能性がある。

本発明の医薬組成物の成分には、CL-L2s ポリヌクレオチドまたはタンパク質、CL-L2s タンパク質の機能を刺激する物質もしくは阻害する物質、CL-L2s タンパク質に対する抗体等の物質（以下、  
10 CL-L2s 関連物質）が含まれる。CL-L2s 関連物質は、そのままあるいは水に希釈する等の各種処理を施して使用することができるが、医薬品、医薬部外品等に配合して使用することができる。この場合、該物質の配合量は製品に応じて適宜選択されるところではあるが、通常全身投与製剤の場合には、0.001～50重量%、特に0.01～10  
15 重量%とすることができ、0.001%より少ないと満足する涙液分泌促進作用が認められない可能性があり、また、50%を越えると製品そのものの安定性や香味等の特性が損なわれる可能性がある。

投与経路は前記示した経口投与および静脈内投与以外に、経粘膜投与、経皮投与、筋肉内投与、皮下投与、直腸内投与等が適宜選択できる。

20 本発明のCL-L2s 関連物質は塩として製剤中に含有されていてもよい。薬剤学的に許容される塩としては、例えば無機塩基、有機塩基等の塩基との塩、無機酸、有機酸、塩基性または酸性アミノ酸などの酸付加塩等が挙げられる。無機塩基としては、例えば、ナトリウム、カリウム等のアルカリ金属、カルシウム、マグネシウム等のアルカリ土類金属、  
25 アルミニウム、アンモニウム等が挙げられる。有機塩基としては、例えば、エタノールアミン等の第一級アミン、ジエチルアミン、ジエタノー

ルアミン、ジシクロヘキシルアミン、N, N' -ジベンジルエチレンジアミン等の第二級アミン、トリメチルアミン、トリエチルアミン、ピリジン、ピコリン、トリエタノールアミン等の第三級アミン等が挙げられる。

無機酸としては、例えば、塩酸、臭化水素酸、硝酸、硫酸、リン酸等が

- 5 挙げられる。有機酸としては、例えば、ギ酸、酢酸、乳酸、トリフルオロ酢酸、フマル酸、シュウ酸、酒石酸、マレイン酸、安息香酸、クエン酸、コハク酸、リンゴ酸、メタンスルホン酸、エタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、p-トルエンスルホン酸等が挙げられる。塩基性アミノ酸としては、例えば、アルギニン、リジン、オルニチン等が挙げられ
- 10 る。酸性アミノ酸としては、例えば、アスパラギン酸、グルタミン酸等が挙げられる。

経口投与を行う場合の剤型として、散剤、顆粒剤、カプセル剤、丸剤、錠剤、エリキシル剤、懸濁剤、乳剤およびシロップ剤等があり、適宜選択することができる。また、それら製剤について徐放化、安定化、易崩壊化、難崩壊化、腸溶性化、易吸収化等の修飾を施すことができる。また、口腔内局所投与を行う場合の剤型として、咀嚼剤、舌下剤、パッカル剤、トローチ剤、軟膏剤、貼布剤、液剤等があり、適宜選択することができる。また、それら製剤について徐放化、安定化、易崩壊化、難崩壊化、腸溶性化、易吸収化等の修飾を施すことができる。

- 20 前記示した剤型について、公知のドラッグデリバリーシステム（DDS）の技術を採用することができる。本明細書に言うDDS製剤とは、除法化製剤、局所適用製剤（トローチ、パッカル錠、舌下錠等）、薬物放出制御製剤、腸溶性製剤および胃溶性製剤等、投与経路、バイオアベイラビリティ、副作用等を勘案した上で、最適の製剤形態にした製剤
- 25 を言う。

DDSの構成要素には基本的に薬物、薬物放出モジュール、覆いおよ

び治療プログラムから成り、各々の構成要素について、特に放出を停止させた時に速やかに血中濃度が低下する半減期の短い薬物が好ましく、投与部位の生体組織と反応しないおおいが好ましく、さらに、設定された期間において最良の薬物濃度を維持する治療プログラムを有するのが好ましい。薬物放出モジュールは基本的に薬物貯蔵庫、放出制御部、エネルギー源および放出孔または放出表面を有している。これら基本的構成要素は全て揃っている必要はなく、適宜追加あるいは削除等を行い、最良の形態を選択することができる。

DDSに使用できる材料としては、高分子、シクロデキストリン誘導体、レシチン等がある。高分子には不溶性高分子（シリコーン、エチレン・酢酸ビニル共重合体、エチレン・ビニルアルコール共重合体、エチルセルロース、セルロースアセテート等）、水溶性高分子およびヒドロキシルゲル形成高分子（ポリアクリルアミド、ポリヒドロキシエチルメタクリレート架橋体、ポリアクリル架橋体、ポリビニルアルコール、ポリエチレンオキシド、水溶性セルロース誘導体、架橋ポロキサマー、キチン、キトサン等）、徐溶解性高分子（エチルセルロース、メチルビニルエーテル・無水マレイン酸共重合体の部分エステル等）、胃溶性高分子（ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、カルメロースナトリウム、マクロゴール、ポリビニルピロリドン、メタアクリル酸ジメチルアミノエチル・メタアクリル酸メチルコポリマー等）、腸溶性高分子（ヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレート、酢酸フタルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロースアセテートサクシネート、カルボキシメチルエチルセルロース、アクリル酸系ポリマー等）、生分解性高分子（熱凝固または架橋アルブミン、架橋ゼラチン、コラーゲン、フィブリン、ポリシアノアクリレート、ポリグリコール酸、ポリ乳酸、ポリ $\beta$ ヒドロキシ酢酸、ポリカプロラクトン等）

があり、剤型によって適宜選択することができる。

特に、シリコーン、エチレン・酢酸ビニル共重合体、エチレンービニルアルコール共重合体、メチルビニルエーテル・無水マレイン酸共重合体の部分エステルは薬物の放出制御に使用でき、セルロースアセテートは浸透圧ポンプの材料として使用でき、エチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、メチルセルロースは徐放性製剤の膜素材として使用でき、ポリアクリル架橋体は粘膜付着剤として使用できる。

また、製剤中にはその剤形（経口投与剤、注射剤、座剤等の公知の剤形）に応じて、溶剤、賦形剤、コーティング剤、基剤、結合剤、滑沢剤、崩壊剤、溶解補助剤、懸濁化剤、粘稠剤、乳化剤、安定剤、緩衝剤、等張化剤、無痛化剤、保存剤、矯味剤、芳香剤、着色剤等の添加剤を加えて製造することができる。

上記添加剤をそれぞれ具体例を挙げて例示するが、これらに特に限定されるものではない。

〔溶剤〕精製水、注射用水、生理食塩水、ラッカセイ油、エタノール、グリセリン、

〔賦形剤〕デンプン類、乳糖、ブドウ糖、白糖、結晶セルロース、硫酸カルシウム、炭酸カルシウム、タルク、酸化チタン、トレハロース、キシリトール、

〔コーティング剤〕白糖、ゼラチン、酢酸フタル酸セルロースおよび上記記載した高分子、

〔基剤〕ワセリン、植物油、マクロゴール、水中油型乳剤性基剤、油中水型乳剤性基剤、

〔結合剤〕デンプンおよびその誘導体、セルロースおよびその誘導体、ゼラチン、アルギン酸ナトリウム、トラガント、アラビアゴム等の天然

高分子化合物、ポリビニルピロリドン等の合成高分子化合物、デキストリン、ヒドロキシプロピルスターチ、

- 〔滑沢剤〕ステアリン酸およびその塩類、タルク、ワックス類、コムギデンプン、マクロゴール、水素添加植物油、ショ糖脂肪酸エステル、ポリエチレングリコール、

〔崩壊剤〕デンプンおよびその誘導体、寒天、ゼラチン末、炭酸水素ナトリウム、セルロースおよびその誘導体、カルメロースカルシウム、ヒドロキシプロピルスターチ、カルボキシメチルセルロースおよびその塩類ならびにその架橋体、低置換型ヒドロキシプロピルセルロース、

- 10 〔溶解補助剤〕シクロデキストリン、エタノール、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、

〔懸濁化剤〕アラビアゴム、トラガント、アルギン酸ナトリウム、モノステアリン酸アルミニウム、クエン酸、各種界面活性剤、

- 〔粘稠剤〕カルメロースナトリウム、ポリビニルピロリドン、メチルセルロース、ホドロキシプロピルメチルセルロース、ポリビニルアルコール、トラガント、アラビアゴム、アルギン酸ナトリウム、

〔乳化剤〕アラビアゴム、コレステロール、トラガント、メチルセルロース、各種界面活性剤、レシチン、

- 〔安定剤〕亜硫酸水素ナトリウム、アスコルビン酸、トコフェロール、キレート剤、不活性ガス、還元性物質、

〔緩衝剤〕リン酸水素ナトリウム、酢酸ナトリウム、ホウ酸、

〔等張化剤〕塩化ナトリウム、ブドウ糖、

〔無痛化剤〕塩酸プロカイン、リドカイン、ベンジルアルコール、

- 〔保存剤〕安息香酸およびその塩類、パラオキシ安息香酸エステル類、クロロブタノール、逆性石けん、ベンジルアルコール、フェノール、チロメサール、

〔矯味剤〕白糖、サッカリン、カンゾウエキス、ソルビトール、キシリトール、グリセリン、

〔芳香剤〕トウヒチンキ、ローズ油、ならびに

〔着色剤〕水溶性食用色素、レーキ色素。

## 5       〔実施例〕

以下に、本発明の新規コレクチンに関して、実施例に沿って詳細に説明するが、これら実施例の開示によって、本発明が限定的に解釈されるべきでないことは勿論である。

すなわち、E S T (Expressed Sequence Tags) データベースの検索 (実施例 1)、新規ヒトコレクチンのヒト肝臓由来 cDNA ライブラリーからの P C R によるスクリーニングと塩基配列の決定 (実施例 2)、新規ヒトコレクチンのヒト腎臓由来キャップサイト c D N A ライブラリーからの P C R によるスクリーニングと塩基配列の決定 (実施例 3)、新規ヒトコレクチンの相同性検索 (実施例 4)、新規マウスコレクチンの c D N A の取得 (実施例 5)、新規ヒトコレクチンのヒトの組織における発現分布解析 (実施例 6)、新規ヒトコレクチンの遺伝学的解析 (実施例 7)、新規コレクチン C L - L 2 - 1 および C L - L 2 - 2 のヒトの組織における発現分布解析 (実施例 8)、新規コレクチンの発現ベクター p c D N A 3. 1 / M y c - H i s ( + ) - C L - L 2 - 1, 2 の構築 (実施例 9)、新規コレクチンの安定発現細胞株の作成 (実施例 10)、新規コレクチンの糖特異性の解析 (実施例 11) について以下に説明する。

## 〔実施例 1 : E S T データベースの検索〕

第 1 図に示した様に共通の構造を有する既知のコレクチンすなわちヒト M B P、ヒト S P - A、ヒト S P - D と本発明者が最近単離に成功したヒト肝臓由来コレクチン C L - L 1 (特開平 11 - 206377 号参照) のアミノ酸残基の相同性を第 2 および 3 図に示した。図中、相同と

認められるアミノ酸残基部分に囲みを付した。この図中、CL-L1 のレクチン活性を担うCRD（糖鎖認識領域）のアミノ酸配列（配列番号14）を用い、EST（Expressed Sequence Tags）データベースの検索を行った。

- 5     その結果、相同性の高いアミノ酸配列を含むデータがいくつか得られた。得られたデータのアミノ酸配列についてGenBank/ESTデータベースの検索を行い、既知または未知物質のいずれであるかを判定した結果、相同性は高いが未知の塩基配列を含む1種のデータ（H30455：胸部由来）を得ることができた。得られたESTクローンの塩
- 10    基配列を用い、再度ESTデータベースを検索した結果、同一の塩基配列を含むことが認められた9種のデータ（登録番号：AA558494：生殖細胞由来、AA582499：腎臓由来、A1420986：前立腺由来、AA742449：生殖細胞由来、AA954657：腎臓由来、AA908360：卵巣由来、A1264145：腎臓由来、AA089855：心臓由来、AA456055：メラノサイト、妊娠子宮、胎児
- 15    心臓由来）を得ることができた。これらはすべて同一の新規コレクチンの塩基配列の一部を示すクローンであった。

〔実施例2：ヒト肝臓由来cDNAライブラリーのPCRによるスクリーニングと塩基配列の決定〕

- 上記の10種のクローンの塩基配列よりコンセンサス配列を作製し
- 20    （配列番号15）、新規ヒトコレクチンのcDNAの5'上流領域をクローニングするため、実施例1で得られたコンセンサス配列を基に上流方向への2種類のプライマーCAP1（5'-agattttattgtatagcttgg-3'（配列番号16）、CAP2（5'-ctgggtaataattacataatg-3'（配列番号17）と、ヒト肝臓由来cDNAライブラリーのベクター領域の一部分のプライマ
- 25    ーλTriplEx-F1（5'-aagctccgagatctggacgag-3'（配列番号18））、λTriplEx-F2（5'-ctcgggaagcgcgccattgtg-3'（配列番号19））をPE App

lied Biosystems社製 392A DNA/RNAシンセサイザーにより合成し、以下のようにPCRによるスクリーニングを行った（第4図）。

PCRによるスクリーニングのテンプレートとしてヒト肝臓由来cDNAライブラリー（クローンテック社製）を用い、第一回PCRを行った。反応混液は、総液量 50  $\mu$ Lにて、LA PCR Buffer II ( $Mg^{2+}$  不含)、2.5 mM  $MgCl_2$ 、それぞれ200  $\mu$ MのdATP、dCTP、dGTPおよびdTTP（以上、すべて宝酒造社製）を1  $\mu$ L、ヒト肝臓由来cDNAライブラリー（クローンテック社製）、0.5  $\mu$ M  $\lambda$ TriplEx-F1プライマー、ならびに0.5  $\mu$ M CAP1プライマーを含むものとした。PCRは熱変性95℃にて20秒、アニーリング60℃にて20秒、伸長反応72℃にて90秒を35サイクル、また繰り返し反応前に熱変性95℃にて5分、最後に伸長反応72℃にて5分を含むプログラムで行った。第1回PCR終了後、第2回PCRを行った。第1回PCR産物1  $\mu$ Lを鋳型とし、プライマーは $\lambda$ TriplEx-F2プライマーおよびCAP2プライマーを用い、第1回PCRと同様の反応組成、プログラム（但し、サイクル数は25サイクル）で行った。以上のPCRはPE Applied Biosystems社製 GeneAmp PCR System9700により行った。得られたPCR産物をアガロースゲル電気泳動により確認後、バンドをゲルより切り出し、-80℃、10分間で凍結し、15000 rpmにて10分間遠心分離後、上清をエタノール沈澱することにより精製した。

精製したDNA断片は、Novagen 社製 pT7Blue Vector に組み込み、このベクターをコンピテントセル XL1-Blue 細胞に形質転換した。形質転換体をLB培地（100  $\mu$ g/mLアンピシリン）で培養し、アルカリSDS法によりプラスミドを抽出し、PE Applied Biosystems社製 BigDye Terminator Cycle Sequencing FS Ready Reaction kitおよびABI PRISM 377シーケンサで塩基配列の決定を行った。プライマーはM13 Universal P

ライマー (5'-cgacgttgtgaaaaacgacggccagt-3' (配列番号 20)) および  
13 Reverseプライマー (5'-caggaacagctatgac-3' (配列番号 21)) (両  
プライマーともにCAP1プライマーと同様にして合成した) を用いた。こ  
の結果得られた塩基配列はCAP2プライマーの3'末端側からN末端側に  
5 575塩基長い配列であることが明らかとなった (第4図に示すCL-L2-1  
ORFのアミノ酸番号68~271、またはCL-L2-2 ORFのアミノ酸番号4  
2~245に相当する領域)。但し、実施例1で得られたESTのコン  
センサス配列の5'末端領域の塩基配列と若干の相違が認められた。

[実施例3：新規ヒトコレクチンのヒト腎臓由来キャップサイトcD  
10 NAライブラリーからのPCRによるスクリーニングと塩基配列の決  
定]

実施例2で得られた塩基配列よりさらに転写開始点を含む5'末端領  
域のクローニングを行うため、実施例2で得られた塩基配列をもとに上  
流方向への2種類のプライマーCAP3 (5'-ggicctatgtcaccggaatc-3' (配  
15 列番号22))、CAP4 (5'-ttccatgacgaccacactgc-3' (配列番号23))  
をPE Applied Biosystems社製392A DNA/RNAシンセサイザーにより合成  
し、以下のようにキャップサイトcDNAを用いて、PCRによるスク  
リーニングを行った (第4図)。

Cap Site cDNA、Human Kidney (NIPPON GENE 社製) により、添付の 1  
20 RC2プライマー (5'-caaggtacgccacagcgtaig-3' (配列番号24)) およ  
びCAP3プライマーを用いて第1回PCRを行った。反応混液は、総液量  
50  $\mu$ Lにて、LA PCR Buffer II ( $Mg^{2+}$  不含)、2.5mM  $MgCl_2$ 、  
それぞれ200  $\mu$ MのdATP、dCTP、dGTPおよびdTTP (以  
上 宝酒造社製) を1  $\mu$ L、Cap Site cDNA Human Kidney、0.5  $\mu$ M 1RC2  
25 プライマー (以上 NIPPON GENE 社製)、ならびに0.5  $\mu$ M CAP3プラ  
イマーを含むものとした。PCRは、熱変性95℃にて20秒、アニー

リング 60℃にて 20 秒、伸長反応 72℃にて 60 秒を 35 サイクル、  
また繰り返し反応前に熱変性 95℃にて 5 分、最後に伸長反応 72℃に  
て 10 分を含むプログラムで行った。第 1 回 PCR 終了後、第 2 回 PCR  
R を行った。第 1 回 PCR 産物 1  $\mu$ L を鋳型とし、プライマーは添付の 2R  
5 C2 プライマー (5'-gtacgccacagcgtatgatgc-3' (配列番号 25)) および  
CAP4 プライマーを用い、第 1 回 PCR と同様の反応組成、プログラム (但  
し、サイクル数は 25 サイクル) で行った。以上の PCR は PE Applied  
Biosystems 社製 GeneAmp PCR System9700 により行った。得られた PCR  
産物をアガロースゲル電気泳動により確認後、バンドをゲルより切り出  
10 し、-80℃、10 分間凍結し、15000 rpm、10 分、遠心分  
離後、上清をエタノール沈澱することにより精製した。

精製した DNA 断片は、Novagen 社製 pT7Blue Vector に組み込み、  
このベクターをコンピテントセル XL1-Blue 細胞に形質転換した。形質  
転換体を LB 培地 (100  $\mu$ g/ml アンピシリン) で培養し、アルカリ S  
15 D S 法によりプラスミドを抽出し、PE Applied Biosystems 社製 BigDye  
Terminator Cycle Sequencing FS Ready Reaction kit および ABI PRIS  
M 377 シーケンサで塩基配列の決定を行った。プライマーは M13 Universa  
l プライマー (5'-cgacgttgtaaaacgacggccagt-3' (配列番号 20)) およ  
び M13 Reverse プライマー (5'-caggaaacagctatgac-3' (配列番号 21))  
20 を用いた。この結果得られた 2 種類の塩基配列は、実施例 2 で得られた  
塩基配列から N 末端側に 492 塩基長い配列 (配列番号 1) と実施例 2  
で得られた塩基配列から N 末端側に 274 塩基長い配列 (配列番号 3)  
であることが明らかとなった。

以上のことから、ここで得られた CL-L2 は 813 塩基の ORF (転  
25 写解読枠) を有し (配列番号 1)、配列番号 2 に示される 271 のアミ  
ノ酸をコードしている cDNA (CL-L2-1)、並びに 735 塩基

のORF（転写解読枠）を有し（配列番号3）、配列番号4に示される245のアミノ酸をコードしているcDNA（CL-L2-2）の2種類が得られた。

【実施例4：相同性検索】

5 次いで、GenBankデータベースでDNAおよびアミノ酸についての相同性の検索を行った結果、得られたアミノ酸配列は、従来見出されているコレクチンのいずれとも異なる新規タンパク質の配列であることが明らかとなった。

従来報告されている3種のコレクチン（MBP、SP-AおよびSP-D）と本発明者が最近単離したヒト肝臓由来コレクチンCL-L1（特開平11-206377号参照）のアミノ酸配列と、本発明の新規コレクチンのコレクチン構造部分のアミノ酸配列を比較し、その結果を第5および6図に示す。第2および3図と同様に、相同性を有するアミノ酸残基部分に囲みを付した。このアラインメントにより、得られた新規タンパク質は既知コレクチンタンパク質と相同性を有し、コレクチンファミリーに属していることが示される。

また、配列番号4に示すアミノ酸配列の第18～65番目のアミノ酸が欠失した配列番号5に示す塩基配列の第141～731番目によってコードされる変異体（配列番号6）、配列番号4に示すアミノ酸配列の第18～41番目のアミノ酸が欠失した配列番号7に示す塩基配列の第141～803番目によってコードされる変異体（配列番号8）および配列番号4に示すアミノ酸配列の第42～65番目のアミノ酸が欠失した配列番号9に示す塩基配列の第141～803番目によってコードされる変異体（配列番号10）が得られた。

25 【実施例5：新規マウスコレクチンのcDNAの取得】

hCL-L2と同様の方法により、マウス肝臓cDNAライブラリー

のスクリーニングを行うことによりmCL-L2遺伝子を得ることができた。得られたmCL-L2のcDNAクローンは813塩基のORF（転写解読枠）を有し（配列番号12）、配列番号13に示される271のアミノ酸をコードしていることが確認できた。

5     [実施例6：新規コレクチンのヒトの組織における発現分布解析]

新規コレクチンの種々の組織での発現を調べるため、RT-PCR法により解析を行った。得られた新規コレクチンのcDNA配列のネック領域から糖鎖認識領域を増幅できるような2種類のプライマーRTF1（5'-agattccggtgacataggacc-3'（配列番号26））、RTR1（5'-tggtctgggcctc  
10   tgctccctgc-3'（配列番号27））と各組織での新規コレクチンの発現量を比較するためβ-アクチン遺伝子の一部分を増幅できる2種類のプライマーヒトβ-アクチン・センスプライマー（5'-caagagaaggccacggctgct-3'  
（配列番号28））、ヒトβ-アクチン・アンチセンスプライマー（5'-tccttctgcatcctgtcggca-3'（配列番号29））（全てのプライマーはCAP  
15   1プライマーと同様に合成した）を用い、RT-PCRを行った。

種々のヒト由来組織のRNA（（1）脳、（2）心臓、（3）腎臓、（4）肝臓、（5）肺、（6）気管、（7）骨髓、（8）結腸、（9）小腸、（10）脾臓、（11）胃、（12）胸腺、（13）乳腺、（14）前立腺、（15）骨格筋、（16）精巣、（17）子宮、（18）  
20   小脳、（19）胎児脳、（20）胎児肝臓、（21）脊髄、（22）胎盤、（23）副腎、（24）膵臓、（25）唾液腺、（26）甲状腺）をテンプレートとし、RNA LA PCR KIT (AMV) VER1.1（宝酒造社製）を用いてRT-PCRを実施した。まず以下の反応組成で逆転写反応を行った。

25     5mM MgCl<sub>2</sub>、1× RNA PCR Buffer、1mM dNTP Mixture、1U/μL RNaseインヒビター、RNA 2μgを含み、全量

40  $\mu$ L になるようにRNase不含の蒸留水で調節した。同時に逆転写酵素を含まない反応組成も調整して、ネガティブコントロールとした。上記反応液を0.2 mL チューブに入れ、PE Applied Biosystems社製 GeneAmp PCR System9700で42℃で30分間、99℃で5分間、5℃で5分間の1サイクルで逆転写反応を行った。得られた逆転写反応産物の10  $\mu$ Lを用いて、以下の反応組成でLA PCRをそれぞれ28サイクルと35サイクルで行った。2.5 mM  $MgCl_2$ 、1× LA PCR Buffer ( $Mg^{2+}$ 不含)、2 U TaKaRa LA Taq、0.2  $\mu$ M RTF1プライマー、0.2  $\mu$ M RTR1プライマーを加え、全量50  $\mu$ Lになるように滅菌蒸留水で調節した。PCRは、熱変性95℃にて20秒、アニーリング60℃にて20秒、伸長反応72℃にて60秒を28サイクルおよび35サイクル、また繰り返し反応前に熱変性95℃にて5分、最後に伸長反応72℃にて10分を含むプログラムで行った。反応生成物を1.5%アガロースゲル電気泳動により分離し、エチジウムブロマ

15 イド溶液(0.1  $\mu$ g/mL)で染色を行い、トランスイルミネーターで泳動パターンを確認し、発現組織を同定した。各組織での発現量を比較するために、各組織での $\beta$ -アクチン遺伝子の一部分を増幅させるRT-PCRを行い、RNAの補正を行った。方法は上記同様、逆転写反応、PCRを行い、判定を行った。この結果を第7図に示すが、本発明

20 の新規コレクチンは、28サイクルのPCRでは腎臓(レーン3)での発現が強く、その他肝臓(レーン4)、小腸(レーン9)、胸腺(レーン12)、胎児肝臓(レーン20)、脊髄(レーン21)、副腎(レーン23)、脾臓(レーン24)での発現が確認できた。また35サイクルのPCRでは新規コレクチンの発現に強弱は認められるが、試した全

25 ての組織においてユビキタスな発現が確認できた。

[実施例7：新規コレクチンの遺伝学的解析]

得られた新規コレクチンのDNA配列（hCL-L2-1（配列番号1）およびmCL-L2（配列番号：12））に基づき、既知のコレクチンとの遺伝的位置付けを明らかにするために解析を行い、遺伝的系統樹を作製した。

- 5 解析の対象としたコレクチンは、第8図に示す各種コレクチンファミリーの蛋白質（図中、CL-L1、CL-P1は本発明者らが最近単離に成功した）であり、GenBankデータベースからそれぞれのアミノ酸配列を検索して得られたデータをもとにレクチンドメインを含む領域を用いてclustalw法でマルチプル・アライメントを作成し、それらをもとにN-J法（neighbor-joining法）を用い、Phylip version 3.57c packageプログラムを用いて遺伝的系統樹を作成した。

その結果、SP-D、ウシCL-43、およびウシコングルチニンで一つのクラスターを形成し、さらにMBPおよびSP-Aでそれぞれ別々にクラスターを形成しているが、本発明の新規コレクチン遺伝子は  
15 これらのクラスターには属せず、CL-L1と同様のクラスターに属しておりCL-L1のホモログであると推測された。

【実施例8：新規コレクチン（CL-L2-1およびCL-L2-2）のヒトの組織における発現分布解析】

- CL-L2-1（配列番号1）およびCL-L2-2（配列番号3）  
20 の種々の組織での発現を調べるため、RT-PCR法により解析を行った。得られたCL-L2-1の全長の翻訳領域を増幅できるプライマー（RTF2（5'-atgagggggaatctggccctggtg-3'（配列番号30））、RTR2（5'-catgttccttgtcaaactcac-3'（配列番号31）））、得られたCL-L2-2の全長の翻訳領域を増幅できるプライマー（RTF3（5'-atgtgggtgggtgcct  
25 ccgagtc-3'（配列番号32））、RTR2（配列番号31））、および各組織での新規コレクチンの発現量を比較するためβ-アクチン遺伝子の一部分

を増幅できる実施例 6 で使用した 2 種類のヒト  $\beta$ -アクチンプライマー  
(全てのプライマーはCAP1プライマーと同様に合成した)を用い、  
実施例6と同様の方法でRT-PCRを行った。

この結果を第 9 図に示すが、本発明のCL-L 2-1 (配列番号 1)  
5 は、28 サイクルのPCRでは腎臓(レーン3)、肝臓(レーン4)、  
小腸(レーン9)、胸腺(レーン12)、胎児肝臓(レーン20)、脊  
髄(レーン21)、副腎(レーン23)、脾臓(レーン24)での発現  
が強く、また35 サイクルのPCRではCL-L 2-1 (配列番号 1)  
の発現に強弱は認められるが、試した全ての組織においてユビキタスな  
10 発現が確認できた。またCL-L 2-2 (配列番号 3)は、28 サイ  
クルのPCRでは、腎臓(レーン3)での発現が強く、また35 サイクル  
のPCRではCL-L 2-2 (配列番号 3)の発現は腎臓(レーン3)  
の他、発現レベルは低い、前立腺(レーン14)、精巣(レーン16)、  
脊髄(レーン21)、胎盤(レーン22)での発現が確認された。  
15 また、第9図に示したように、CL-L 2-1 およびCL-L 2-2  
のRT-PCR産物に数本の増幅断片が確認された。これらのバンドをゲルよ  
り切り出し、実施例2と同様の方法、すなわち-80℃、10 min. 凍結  
し、15,000 rpm, 10 min. 遠心分離後、上清をエタノール沈澱すること  
により精製した。精製したDNA断片は、Novagen 社製 pT7Blue Vector  
20 に組み込み、このベクターをコンピテントセル XL1-Blue 細胞に形質転  
換した。形質転換体をLB培地(100  $\mu$ g/ml アンピシリン)で培養し、  
アルカリ SDS 法によりプラスミドを抽出し、PE Applied Biosystems社  
製 BigDye Terminator Cycle Sequencing FS Ready Reaction kitおよ  
びABI PRISM 377シーケンサで塩基配列の決定を行った。プライマーはM  
25 13 Universalプライマー(5'-cgacgttgtaaaacgacggccagt-3' (配列番号  
20)) および M13 Reverseプライマー(5'-caggaaacagctatgac-3' (配

列番号21))を用いた。

この結果得られた塩基配列は、実施例2で得られたCL-L2-2(配列番号3)の変異体であるCL-L2-2v1、CL-L2-2v2およびCL-L2-2v3と同様のものであった。また、配列番号2に示すCL-L2-1にはmRNAのオルターナティブスプライシングにより3種のタンパク質が存在していた。それらをCL-L2-1v1(配列番号36、37)、CL-L2-1v2(配列番号38、39)およびCL-L2-1v3(配列番号40、41)と称す。CL-L2-1v1は、配列番号2に示すCL-L2-1のアミノ酸番号44~91間  
10 が欠失(配列番号1に示すCL-L2-1の塩基番号394~537間  
が欠失)したものであり、そのアミノ酸配列は配列番号36に示す塩基配列の第265~933番目(配列番号59)によってコードされる。  
CL-L2-1v2は、配列番号2に示すCL-L2-1のアミノ酸番号44~67間  
15 が欠失(配列番号1に示すCL-L2-1の塩基番号394~465間  
が欠失)したものであり、そのアミノ酸配列は配列番号38に示す塩基配列の第265~1005番目(配列番号60)によってコードされる。CL-L2-1v3は、配列番号2に示すCL-L2-1のアミノ酸番号68~91間  
20 が欠失(配列番号1に示すCL-L2-1の塩基番号466~537間  
が欠失)したものであり、そのアミノ酸配列は配列番号40に示す塩基配列の第265~1005番目(配列番号61)によってコードされる。また実施例4と同様の方法にてmCL-L2-2遺伝子を得ることができた。

[実施例9：新規コレクチンの発現ベクターpcDNA3.1/Myc-His(+)-A-CL-L2-1,2の構築]

25 CL-L2-1(配列番号1)の翻訳領域を、CL-L2-1Fプライマー(5'-gggaagccttcgattcaggatgagggggaatctggccctgggtg-3'(配列番号:33))

とCL-L2-1Rプライマー (5'-gggctcgagcatgttccttctgcaaacctcac-3' (配  
列番号: 34)) を用いて、また新規コレクチン (配列番号3) の翻訳  
領域をCL-L2-2Fプライマー (5'-gggaagcttccagcacaatgtgggtgggtgcctccga  
gtc-3' 配列番号: 35)) とCL-L2-1Rプライマー (配列番号: 34) を  
5 用いて、ヒト腎臓由来cDNAライブラリーを鋳型として、PCR (タカラ  
社製: Takara Thermal Cycler MP) により増幅させた。得られたCL-  
L2-1 cDNAをpT7Blue T-Vector (Novagen社製) にライゲーション  
し、大腸菌XLI-Blueにトランスフォーメーションを行った。得られたクロ  
ーンからCL-L2-1 cDNAを含むプラスミドを精製し、シークエ  
10 ンサーにより塩基配列を確認後、誤りのないプラスミドを制限酵素Hind  
IIIとXho Iで消化して、同様の酵素で消化し精製したpcDNA3.1/Myc-His  
(+)Aベクター (インビトロジェン社製) にライゲーションを行った。ラ  
イゲーションしたプラスミドは、大腸菌XLI-Blueにトランスフォーメーシ  
ョン後、得られたクローンを培養し、プラスミドを精製して、発現ベク  
15 ターpcDNA3.1/Myc-His(+)A-CL-L2-1,2とした。尚、この際にCL-L2  
-1とCL-L2-2の変異体 (配列番号5、配列番号7、配列番号9、  
配列番号36、配列番号38および配列番号40) についても同様に発  
現ベクターを作製した。

[実施例10: 新規コレクチンの安定発現細胞株の作成]

20 実施例9により得られた発現ベクターpcDNA3.1/Myc-His(+)A-CL-L2-1  
とpEGFP-Fベクター (クローンテック社製) をLIPOFECTAMINE 2000 (LF20  
00) Reagent (GIBCOBRL社製) を用いてCHO細胞にコトランスフェクトし、  
一過性発現をさせた。まず、LF2000 Reagent溶液0.5 ml (LF2000 Reagen  
t 30 $\mu$ l、Nutrient Mixture F-12 Ham (Ham's F-12培地) (シグマ社  
25 製)) を準備し、5分間室温でインキュベートした後、ベクター溶液0.5  
ml (pcDNA3.1/Myc-His(+)A-CL-L2-1,2: 7.5 $\mu$ g、pEGFP-Fベクター2.5

$\mu$ g、Ham's F-12培地)と混和し、20分間インキュベートした。その後、25cm<sup>2</sup>フラスコで5 ml Ham's F-12培地 (5%FCS含む) で高密度にまで培養したCHO細胞に添加した。4時間、37℃、5%CO<sub>2</sub>下で培養を行った後、新しい培地と交換し、さらに続けて20時間、37℃、5%CO<sub>2</sub>下で培養を行った。次に、培地をHam's F-12培地 (5%FCS、0.4 mg/ml Geneticin (GIBCOBRL社製)含む) に交換し、さらに、10日間培養を行った。途中一度培地交換を行った。

この10日間の薬剤セレクションにより、形質転換細胞のみが生存し増殖したが、形質転換されなかった細胞は死滅した。得られた形質転換細胞から高発現な細胞を得るためにGFPの蛍光をマーカーにしてセルソーター (Becton Dickinson 社製) によりソーティングを行った。形質転換した25cm<sup>2</sup>フラスコの細胞を5 ml PBS(-)で2回洗浄した後、EDTA solution 0.02% (ナカライテスク社製) 0.3 ml で細胞をはがし、10 ml PBS(-)に懸濁した後、200 x g、7分間、4℃で遠心後、上清を除去し、0.5 mlの2% FCS/PBS(-)に懸濁し、ソーティングサンプルとした。サンプルはセルストレーナーキャップ付き5 ml チューブ (Becton Dickinson 社製) を通した後セルソーターにかけた。同様に処理した形質転換していないCHO細胞をコントロールとして蛍光強度が10倍以上高いものをセレクションした。これらの細胞はあらかじめHam's F-12培地 (5%FCS、0.4 mg/ml Geneticin含む) を100 $\mu$ l ずつ入れておいた96穴細胞培養用プレートに1穴あたり1細胞ずつ分取した。37℃、5%CO<sub>2</sub>下で培養を行い、1週間培養後、さらに、100 $\mu$ l ずつ培養液を加え、さらに1週間培養を行った。Geneticinによる薬剤セレクションにより増殖してきたクローンを2分割して、12穴および24穴細胞培養用プレート継代した。このとき、1穴に2細胞以上から増殖してきているようなクローンは除外し、12穴および24穴細胞培養用プレートには9:1の細胞比で細胞を播いた。37℃、5%CO<sub>2</sub>

下で培養を行い、12穴のプレートの細胞が高密度にまで達した時、その培養上清の200 $\mu$ lをImmobilon-Pメンブレン（ミリポア社製）にBio-Dot Microfiltration Apparatus（BIO-RAD社製）を用いてドットプロットし、抗myc抗体（Invitrogen社製）を0.05% Tween 20/TBS buffer（宝酒造社製）で5000倍希釈した溶液に室温で1時間インキュベートした後、100mlの0.05% Tween 20/TBS bufferでメンブレンを室温で20分間 $\times$ 3回洗浄し、さらに抗マウスIgG-HRP（ケミコン社製）を0.05% Tween 20/TBS bufferで5000倍希釈した溶液に室温で1時間インキュベートした後、100mlの0.05% Tween 20/TBS bufferでメンブレンを室温で20分間 $\times$ 3回洗浄し、TMB Membrane Peroxidase substrate system（フナコシ社製）を用いて検出した。発色の強かったクローンを確認した後、それぞれ対応する24穴のプレートの細胞を安定発現細胞株（CH0/CL-L2-1）とした。

〔実施例11：新規コレクチンの糖結合特性の解析〕

実施例10で作製した新規コレクチンの安定発現細胞株（CHQ/CL-L2-1）の培養上清1LをVIVAPORE10（フナコシ社製）を用いて50mlに濃縮した後、Ni-NTA アガロース（キアゲン社製）を200 $\mu$ l加え、一晚、4℃で浸透しながらインキュベーションすることにより新規コレクチンをNi-NTA アガロースに結合させた。Ni-NTA アガロースをPoly-Prep Chromatography Columns（バイオラッド社製）に充填し、5mlの50mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>、300mM NaCl、20mM イミダゾール、0.05% Tween20（pH8.0）で3回洗浄した後、200 $\mu$ lの50mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>、300mM NaCl、250mM イミダゾール、0.05% Tween20（pH8.0）で5回溶出することにより精製した。精製した新規コレクチンを定量し、糖特異性の解析に使用した。

すなわち、精製した新規コレクチン（1 $\mu$ g）を、結合特性を調べる糖鎖プローブの種類分Immobilon-Pメンブレン（ミリポア社製）にBio-Dot Microfiltration Apparatus（BIO-RAD社製）を用いてドットプロットし

た後、各ドットを1 cm面に切り取り、ブロックエース（大日本製薬社製）に浸けて、室温で1時間インキュベートした。次にメンブレンを0.05% Tween20、5mM CaCl<sub>2</sub>、TBS bufferで3回洗浄し、5mM CaCl<sub>2</sub>、TBS bufferで1 μg/mlに希釈した各種糖鎖プローブ（第10図）溶液中で室温で1時間インキュベートした後、再度0.05% Tween20、5mM CaCl<sub>2</sub>、TBS bufferで3回洗浄した。次に0.05% Tween20、5mM CaCl<sub>2</sub>、TBS bufferで1000倍希釈したStreptavidin-biotinylated HRP（アマシャム社製）溶液中に室温で30分間インキュベートし、0.05% Tween20、5mM CaCl<sub>2</sub>、TBS bufferで3回洗浄した後、TMB Membrane Peroxidase substrate system（フナコシ社製）を用いて検出した。第10図に示した様に新規コレクチンはマンノース、フコース、N-アセチルガラクトサミン、N-アセチルノイラミン酸、マンノース-6-リン酸と結合する活性を有していた。

本発明のCL-L2sタンパク質は、コレクチン構造を有していることから、それらに特有の効果を示す物質と考えられ、基礎免疫の機能の解明、細菌感染症等を始めとする各種疾患等の発症機構の解明、さらにその診断、予防および治療法、並びにそれらのための試薬や医薬の開発に利用できるものである。

## 請 求 の 範 囲

1. 配列番号2のアミノ酸番号1～271に示すアミノ酸271個から成るアミノ酸配列を有するタンパク質、または、配列番号2に示すアミノ酸配列において1もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ配列番号2のアミノ酸番号1～271に示すアミノ酸配列を有するタンパク質と同等の性質を有するタンパク質、あるいはこれらの誘導体または断片。

2. 配列番号45（配列番号1の塩基番号265～1077に相当）に示す塩基配列、配列番号2のアミノ酸番号1～271に示すアミノ酸配列またはその断片をコードする塩基配列、または、これら塩基配列もしくはこれら塩基配列と相補的な塩基配列とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ配列番号2のアミノ酸番号1～271に示すアミノ酸配列を有するタンパク質と同等の性質を有するタンパク質をコードする塩基配列。

3. 配列番号4のアミノ酸番号1～245に示すアミノ酸245個から成るアミノ酸配列を有するタンパク質、または、配列番号4のアミノ酸番号1～245に示すアミノ酸配列において1もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ配列番号4のアミノ酸番号1～245に示すアミノ酸配列を有するタンパク質と同等の性質を有するタンパク質、あるいはこれらの誘導体または断片。

4. 配列番号46（配列番号3の塩基番号141～875に相当）に示す塩基配列、配列番号4のアミノ酸番号1～245に示すアミノ酸配列またはその断片をコードする塩基配列、または、これら塩基配列もしくはこれら塩基配列と相補的な塩基配列とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ配列番号4のアミノ酸番号1～245に示すア

ミノ酸配列を有するタンパク質と同等の性質を有するタンパク質をコードする塩基配列。

5. 配列番号 47 (配列番号 2 のアミノ酸番号 113 ~ 271 に相当) に示すアミノ酸 159 個から成るアミノ酸配列を有するタンパク質、または、配列番号 2 に示すアミノ酸配列において 1 もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ配列番号 2 のアミノ酸番号 113 ~ 271 に示すアミノ酸配列を有するタンパク質と同等の性質を有するタンパク質、あるいはこれらの誘導体または断片。

10 6. 配列番号 48 (配列番号 1 の塩基番号 601 ~ 1077 に相当) に示す塩基配列、配列番号 2 のアミノ酸番号 113 ~ 271 に示すアミノ酸配列またはその断片をコードする塩基配列、または、これら塩基配列もしくはこれら塩基配列と相補的な塩基配列とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ配列番号 2 のアミノ酸番号 113 ~ 271  
15 1 に示すアミノ酸配列を有するタンパク質と同等の性質を有するタンパク質をコードする塩基配列。

7. 請求の範囲第 5 項記載のタンパク質の N 末端側に (Gly-Xaa-Yaa)  $n$  (但し  $n$  は 1 以上 50 以下の整数を示し、Xaa および Yaa はアミノ酸残基を示し、Xaa と Yaa は同一アミノ酸残基であっても異なるアミノ酸残基であ  
20 っても良い) の構造をさらに含むことを特徴とするタンパク質。

8. (Gly-Xaa-Yaa)  $n$  が下記群、すなわち、

Gly-Leu-Lys-Gly-Asp-Ala-Gly-Glu-Lys-Gly-Asp-Lys-Gly-Ala-Pro-Gly-Arg-Pro-Gly-Arg-Val-Gly-Pro-Thr-Gly-Glu-Lys-Gly-Asp-Met-Gly-Asp-Lys-Gly-Gln-Lys-Gly-Ser-Val-Gly-Arg-His-Gly-Lys-Ile-Gly-Pro-Ile-Gly-Ser-Lys-Gly-Glu-Lys-Gly-Asp-Ser-Gly-Asp-Ile-Gly-Pro-Pro-Gly-Pro-Asn-Gly-Glu-Pro-Gly-Leu-Pro- (配列番号 49 (配列番号 2 : アミ  
25

ノ酸番号 41 ~ 112 に相当) )、

Gly-Asp-Ala-Gly-Glu-Lys-Gly-Asp-Lys-Gly-Ala-Pro-Gly-Arg-Pro-Gly-Arg-Val-Gly-Pro-Thr-Gly-Glu-Lys-Gly-Asp-Met-Gly-Asp-Lys-Gly-Gln-Lys-Gly-Ser-Val-Gly-Arg-His-Gly-Lys-Ile-Gly-Pro-Ile-Gly-Ser-Lys-Gly-Glu-Lys-Gly-Asp-Ser-Gly-Asp-Ile-Gly-Pro-Pro-Gly-Pro-Asn-Gly-Glu-Pro-Gly-Leu-Pro (配列番号 50 (配列番号 2 : アミノ酸番号 44 ~ 112、もしくは配列番号 4 : アミノ酸番号 18 ~ 86 に相当) )、

Gly-Glu-Lys-Gly-Asp-Ser-Gly-Asp-Ile-Gly-Pro-Pro-Gly-Pro-Asn-Gly-Glu-Pro-Gly-Leu-Pro (配列番号 51 (配列番号 2 : アミノ酸番号 92 ~ 112、もしくは配列番号 4 : アミノ酸番号 66 ~ 86 に相当) )、

Gly-Asp-Met-Gly-Asp-Lys-Gly-Gln-Lys-Gly-Ser-Val-Gly-Arg-His-Gly-Lys-Ile-Gly-Pro-Ile-Gly-Ser-Lys-Gly-Glu-Lys-Gly-Asp-Ser-Gly-Asp-Ile-Gly-Pro-Pro-Gly-Pro-Asn-Gly-Glu-Pro-Gly-Leu-Pro (配列番号 52 (配列番号 2 : アミノ酸番号 68 ~ 112、もしくは配列番号 4 : アミノ酸番号 42 ~ 86 に相当) )、

Gly-Asp-Ala-Gly-Glu-Lys-Gly-Asp-Lys-Gly-Ala-Pro-Gly-Arg-Pro-Gly-Arg-Val-Gly-Pro-Thr-Gly-Glu-Lys-Gly-Glu-Lys-Gly-Asp-Ser-Gly-Asp-Ile-Gly-Pro-Pro-Gly-Pro-Asn-Gly-Glu-Pro-Gly-Leu-Pro (配列番号 11 (配列番号 2 : アミノ酸番号 41 ~ 67 および 92 ~ 112、もしくは配列番号 4 : アミノ酸番号 18 ~ 41 および 66 ~ 86 に相当) )、

Gly-Leu-Lys-Gly-Glu-Lys-Gly-Asp-Ser-Gly-Asp-Ile-Gly-Pro-Pro-Gly-Pro-Asn-Gly-Glu-Pro-Gly-Leu-Pro (配列番号 43 (配列番号 2 : アミノ酸番号 41 ~ 43 および 92 ~ 112 に相当) )、または

Gly-Leu-Lys-Gly-Asp-Met-Gly-Asp-Lys-Gly-Gln-Lys-Gly-Ser-Val-Gly-Arg-His-Gly-Lys-Ile-Gly-Pro-Ile-Gly-Ser-Lys-Gly-Glu-Lys-Gly-Asp-Ser-Gly-Asp-Ile-Gly-Pro-Pro-Gly-Pro-Asn-Gly-Glu-Pro-Gly-Leu-Pro

(配列番号 4 2 (配列番号 2 : アミノ酸番号 4 1 ~ 4 3 および 6 8 ~ 1 1 2 に相当) )

Gly-Leu-Lys-Gly-Asp-Ala-Gly-Glu-Lys-Gly-Asp-Lys-Gly-Ala-Pro-Gly-  
Arg-Pro-Gly-Arg-Val-Gly-Pro-Thr-Gly-Glu-Lys-Gly-Glu-Lys-Gly-Asp-  
5 Ser-Gly-Asp-Ile-Gly-Pro-Pro-Gly-Pro-Asn-Gly-Glu-Pro-Gly-Leu-Pro  
(配列番号 4 4 (配列番号 2 : アミノ酸番号 4 1 ~ 6 7 および 9 2 ~ 1 1 2 に相当) )

を含む配列から選択されることを特徴とする、請求の範囲第 7 項記載のタンパク質。

10 9. 請求の範囲第 7 または 8 項記載のタンパク質をコードする塩基配列。

1 0. 請求の範囲第 7 または 8 項記載のタンパク質の (Gly-Xaa-Yaa) n の構造の N 末端に以下のアミノ酸配列すなわち、

Met-Arg-Gly-Asn-Leu-Ala-Leu-Val-Gly-Val-Leu-Ile-Ser-Leu-Ala-Phe-  
15 Leu-Ser-Leu-Leu-Pro-Ser-Gly-His-Pro-Gln-Pro-Ala-Gly-Asp-Asp-Ala-  
Cys-Ser-Val-Gln-Ile-Leu-Val-Pro (配列番号 5 3 (配列番号 2 : アミノ酸番号 1 ~ 4 0 に相当) )

をさらに含むことを特徴とするタンパク質。

1 1. 請求の範囲第 7 または 8 項記載のタンパク質の (Gly-Xaa-Yaa) n の構造の N 末端に以下のアミノ酸配列すなわち、

Met-Trp-Trp-Val-Pro-Pro-Ser-Pro-Tyr-Gly-Cys-Leu-Pro-Cys-Ala-Leu-  
20 Pro (配列番号 5 4 (配列番号 4 : アミノ酸番号 1 ~ 1 7 に相当) )

をさらに含むことを特徴とするタンパク質。

1 2. 請求の範囲第 1 0 または 1 1 項記載のタンパク質をコードする塩  
25 基配列。

1 3. 配列番号 6 のアミノ酸番号 1 ~ 1 9 7 に示すアミノ酸 1 9 7 個か

ら成るアミノ酸配列を有するタンパク質、または、配列番号 6 に示すアミノ酸配列において 1 もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ配列番号 6 のアミノ酸番号 1 ~ 197 に示すアミノ酸配列を有するタンパク質と同等の性質を有するタンパク質、あるいはこれらの誘導体または断片。

14. 配列番号 55 (配列番号 5 の塩基番号 141 ~ 731 に相当) に示す塩基配列、配列番号 6 のアミノ酸番号 1 ~ 197 に示すアミノ酸配列またはその断片をコードする塩基配列、または、これら塩基配列もしくはこれら塩基配列と相補的な塩基配列とストリンジントな条件下でハイブリダイズし、かつ配列番号 6 のアミノ酸番号 1 ~ 197 に示すアミノ酸配列を有するタンパク質と同等の性質を有するタンパク質をコードする塩基配列。

15. 配列番号 8 のアミノ酸番号 1 ~ 221 に示すアミノ酸 221 個から成るアミノ酸配列を有するタンパク質、または、配列番号 8 のアミノ酸番号 1 ~ 221 に示すアミノ酸配列において 1 もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ配列番号 8 のアミノ酸番号 1 ~ 221 に示すアミノ酸配列を有するタンパク質と同等の性質を有するタンパク質、あるいはこれらの誘導体または断片。

16. 配列番号 56 (配列番号 7 の塩基番号 141 ~ 803 に相当) に示す塩基配列、配列番号 8 のアミノ酸番号 1 ~ 221 に示すアミノ酸配列またはその断片をコードする塩基配列、または、これら塩基配列もしくはこれら塩基配列と相補的な塩基配列とストリンジントな条件下でハイブリダイズし、かつ配列番号 8 のアミノ酸番号 1 ~ 221 に示すアミノ酸配列を有するタンパク質と同等の性質を有するタンパク質をコードする塩基配列。

17. 配列番号 10 のアミノ酸番号 1 ~ 221 に示すアミノ酸 221 個

から成るアミノ酸配列を有するタンパク質、または、配列番号 10 のアミノ酸番号 1 ~ 221 に示すアミノ酸配列において 1 もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ配列番号 10 のアミノ酸番号 1 ~ 221 に示すアミノ酸配列を有するタン

5    パク質と同等の性質を有するタンパク質、あるいはこれらの誘導体または断片。

18. 配列番号 57 (配列番号 9 の塩基番号 141 ~ 803 に相当) に示す塩基配列、配列番号 10 のアミノ酸番号 1 ~ 221 に示すアミノ酸配列またはその断片をコードする塩基配列、または、これら塩基配列も

10    しくはこれら塩基配列と相補的な塩基配列とストリンジントな条件下でハイブリダイズし、かつ配列番号 10 のアミノ酸番号 1 ~ 221 に示すアミノ酸配列を有するタンパク質と同等の性質を有するタンパク質をコードする塩基配列。

19. 配列番号 13 のアミノ酸番号 1 ~ 271 に示すアミノ酸 271 個

15    から成るアミノ酸配列を有するタンパク質、または、配列番号 13 のアミノ酸番号 1 ~ 271 に示すアミノ酸配列において 1 もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ配列番号 13 のアミノ酸番号 1 ~ 271 に示すアミノ酸配列を有するタンパク質と同等の性質を有するタンパク質、あるいはこれらの誘導体または

20    は断片。

20. 配列番号 58 (配列番号 12 の塩基番号 157 ~ 969 に相当) に示す塩基配列、配列番号 13 のアミノ酸番号 1 ~ 271 に示すアミノ酸配列またはその断片をコードする塩基配列、または、これら塩基配列も

25    しくはこれら塩基配列と相補的な塩基配列とストリンジントな条件下でハイブリダイズし、かつ配列番号 13 のアミノ酸番号 1 ~ 271 に示すアミノ酸配列を有するタンパク質と同等の性質を有するタンパク質

をコードする塩基配列。

21. 配列番号37のアミノ酸番号1～223に示すアミノ酸223個から成るアミノ酸配列を有するタンパク質、または、配列番号37のアミノ酸番号1～223に示すアミノ酸配列において1もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ配列番号37のアミノ酸番号1～223に示すアミノ酸配列を有するタンパク質と同等の性質を有するタンパク質、あるいはこれらの誘導体または断片。

22. 配列番号59（配列番号36の塩基番号265～933に相当）に示す塩基配列、配列番号37のアミノ酸番号1～223に示すアミノ酸配列またはその断片をコードする塩基配列、または、これら塩基配列もしくはこれら塩基配列と相補的な塩基配列とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ配列番号37のアミノ酸番号1～223に示すアミノ酸配列を有するタンパク質と同等の性質を有するタンパク質をコードする塩基配列。

23. 配列番号39のアミノ酸番号1～247に示すアミノ酸247個から成るアミノ酸配列を有するタンパク質、または、配列番号39のアミノ酸番号1～247に示すアミノ酸配列において1もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ配列番号39のアミノ酸番号1～247に示すアミノ酸配列を有するタンパク質と同等の性質を有するタンパク質、あるいはこれらの誘導体または断片。

24. 配列番号60（配列番号38の塩基番号265～1005に相当）に示す塩基配列、配列番号39のアミノ酸番号1～247に示すアミノ酸配列またはその断片をコードする塩基配列、または、これら塩基配列もしくはこれら塩基配列と相補的な塩基配列とストリンジェントな条件

下でハイブリダイズし、かつ配列番号 39 のアミノ酸番号 1～247 に示すアミノ酸配列を有するタンパク質と同等の性質を有するタンパク質をコードする塩基配列。

25. 配列番号 41 のアミノ酸番号 1～247 に示すアミノ酸 247 個から成るアミノ酸配列を有するタンパク質、または、配列番号 41 のアミノ酸番号 1～247 に示すアミノ酸配列において 1 もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ配列番号 41 のアミノ酸番号 1～247 に示すアミノ酸配列を有するタンパク質と同等の性質を有するタンパク質、あるいはこれらの誘導体または断片。

26. 配列番号 61 (配列番号 40 の塩基番号 265～1005 に相当) に示す塩基配列、配列番号 41 のアミノ酸番号 1～247 に示すアミノ酸配列またはその断片をコードする塩基配列、または、これら塩基配列もしくはこれら塩基配列と相補的な塩基配列とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ配列番号 41 のアミノ酸番号 1～247 に示すアミノ酸配列を有するタンパク質と同等の性質を有するタンパク質をコードする塩基配列。

27. 請求の範囲第 2、4、6、9、12、14、16、18、20、22、24 または 26 項に記載の塩基配列を含むことを特徴とするベクター。

28. 請求の範囲第 2、4、6、9、12、14、16、18、20、22、24 または 26 項に記載の塩基配列を発現可能に保持する形質転換細胞。

29. 請求の範囲第 2、4、6、9、12、14、16、18、22、24 または 26 項に記載の塩基配列で形質転換した細胞を培養し、産生された hCL-L2s タンパク質を採取することを特徴とするタンパク

質の製造法。

30. 請求の範囲第20項記載の塩基配列で形質転換した細胞を培養し、  
産生されたmCL-L2sタンパク質を採取することを特徴とするタン  
パク質の製造法。

5 31. 細胞が大腸菌、動物細胞または昆虫細胞である、請求の範囲第2  
9または30項に記載の製造法。

32. CL-L2s遺伝子の発現レベルを変化させたトランスジェニック  
ク非ヒト動物。

33. mCL-L2s遺伝子の機能を欠損させたノックアウトマウス。

10 34. 請求の範囲第1、3、5、7、8、10、11、13、15、1  
7、19、21、23または25項に記載のタンパク質またはその断片  
に対する抗体。

35. ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体またはペプチド抗体で  
ある請求の範囲第34項記載の抗体。

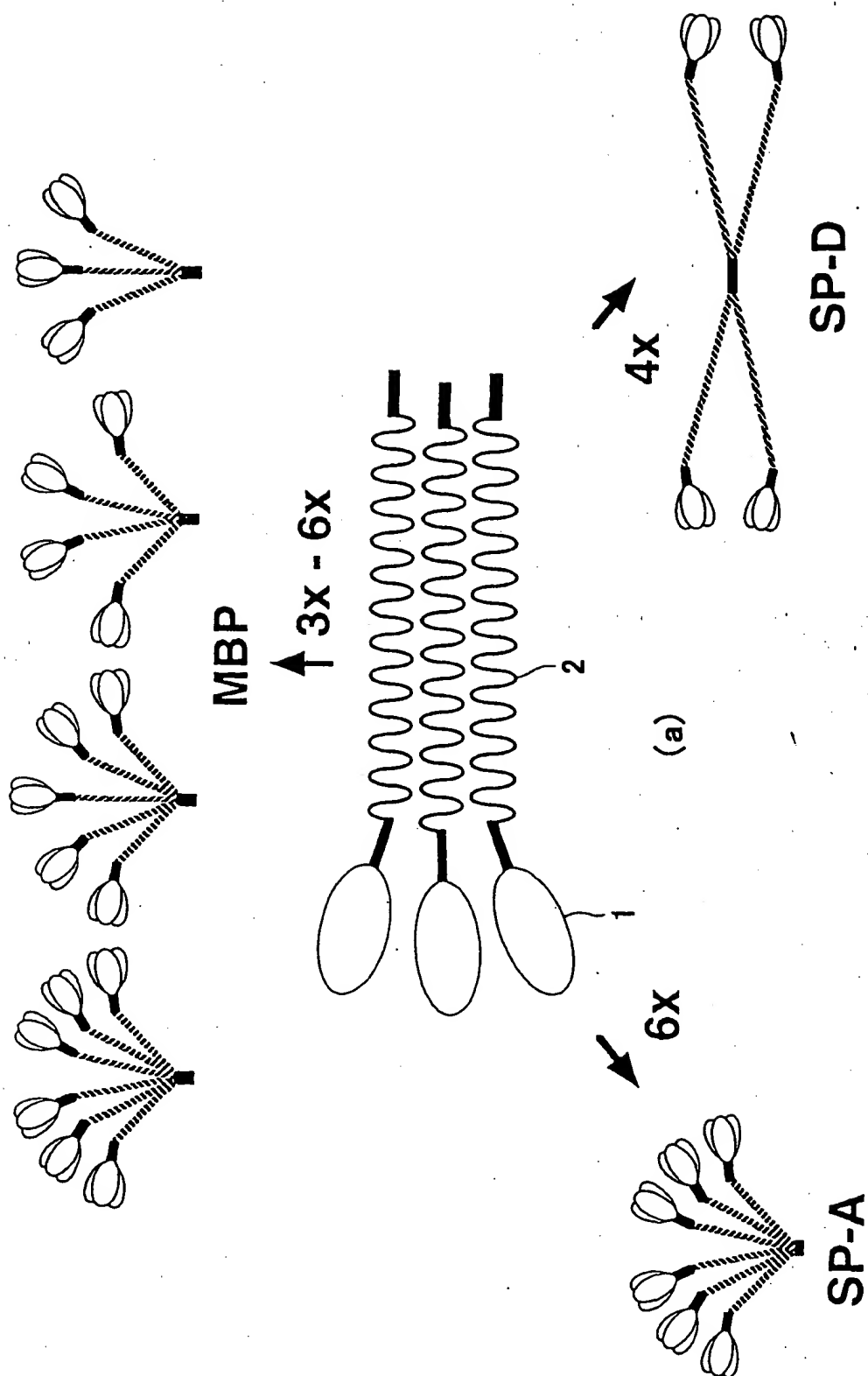
15 36. 請求の範囲第34または35項に記載の抗体とCL-L2sタン  
パク質またはその断片との免疫学的な結合に基づいて、該タンパク質ま  
たはその断片を測定する方法。

20 37. 請求の範囲第1、3、5、7、8、10、11、13、15、1  
7、19、21、23または25項に記載のタンパク質の機能を刺激す  
るアゴニスト。

38. 請求の範囲第1、3、5、7、8、10、11、13、15、1  
7、19、21、23または25項に記載のタンパク質の機能を阻害す  
るアンタゴニスト。

25 39. 請求の範囲第1、3、5、7、8、10、11、13、15、1  
7、19、21、23または25項に記載のタンパク質を用いることを  
特徴とする薬物のスクリーニング方法。

40. 請求の範囲第39項に記載のスクリーニング方法によって得られた薬物。



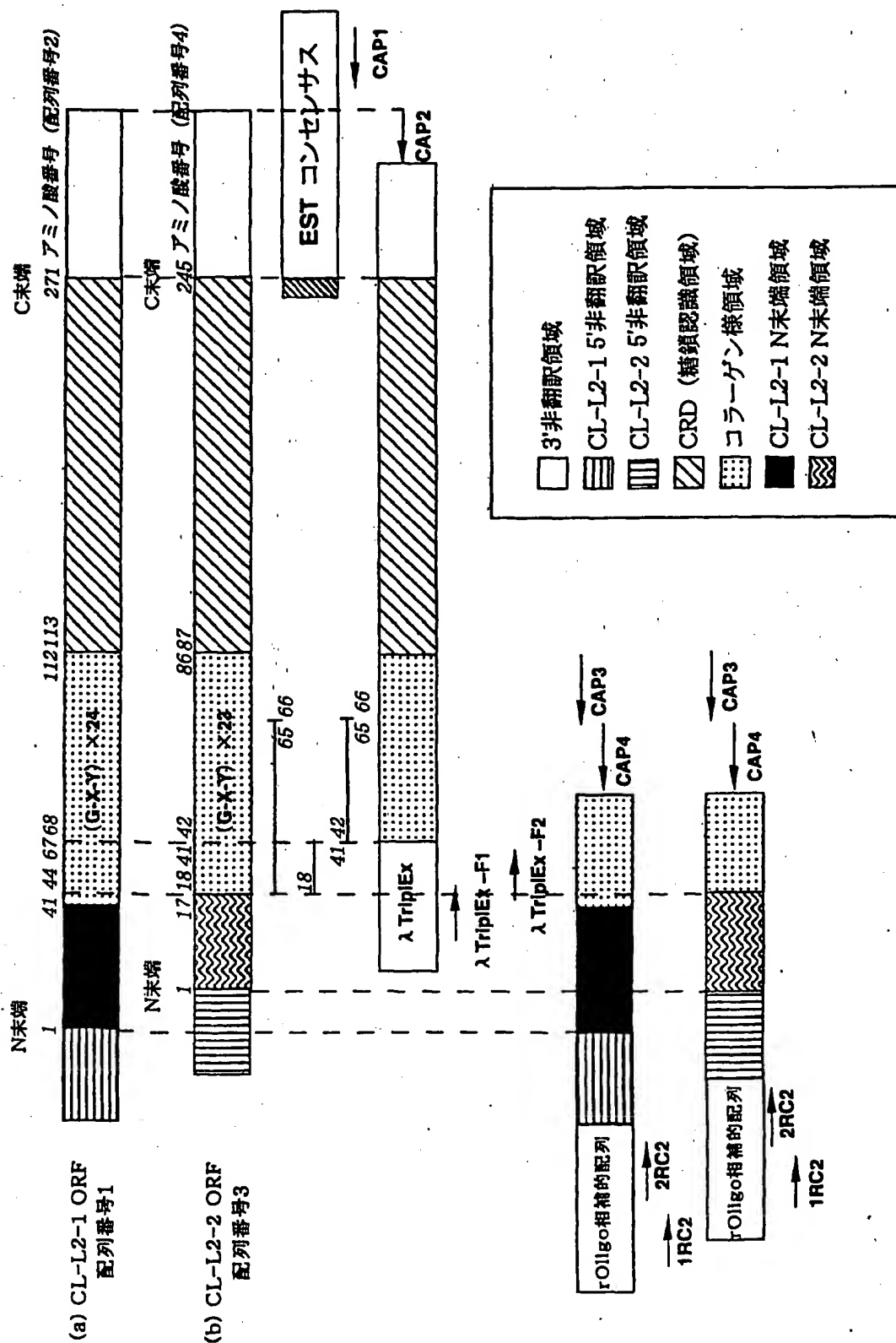
第1図



MBP    G K G D P G    S P D G S S L A A    S E R K A L Q T E M A R I K K W L T E S I G K Q V G N K F F I L T N G E I M T E  
 SP-A    H A H L D E E L Q A T I H D    F R H Q I L Q T R G A L S - L Q G S I    M T V G E K V E S S N G Q S I T E  
 SP-D    G D K G I E P G D G A K G E S G I P D V A S I R Q Q V E A L Q Q V Q H L Q A A F S Q Y K K V E L P N G Q S V G E K I E K I A G F V K P E  
 CL-L1    T V C D C G R Y E K F V G Q L D I S I A R I K T S M K F V K N - - V I A G I R E T E E K F Y Y I V Q E E K N Y

E K V K A L Q V K F O A S V A T P R N A A E N G A I O N I I - - K E E - A F L G I T D E K T E G Q F V D L T G N R L T - Y T N W N E G E E  
 P A I Q E A C A R A G G R I A V P R N P E E N E A I A S F V K K Y N T Y - A Y V G L T E G P S P G D E R Y S D G T H V N - Y T N W Y R G E E  
 T E A Q L L C T Q A G G Q L A S P R S A A E N A A L Q Q L V A K N E A - A F I S M T D S K T E G K E T Y P T G E S I V - Y S N W A P G E E  
 R E S L T H Q R I R G G M L A M E K D E F A N T I L A D Y M A K S G F F R V E I G V N D L E R E G Q Y M F T N T P I O N Y S N W N E G E E

N N A G S D E D C V L I I K N G Q W N D V P C S T S H I A V C E F P I \* - - -  
 A G R G - K E Q C V E M Y T D G W N D R N G L Y S R I T I C E F \* - - - -  
 N E D G G S E D C V E I F T N G K W N D R A C G E K R I V C E F \* - - - -  
 S P Y C H E D C V E M I S S G R W N D T E C H I L T M Y F V C E F I K K K K \*



第4図

MBP MSLFPS-I---PILLLISMVAAS[SE]TVTCE[DAOKT]---CPAVIA[SS]---PGIN[FP]GK[DG]R[DG]TK[GE]KG  
 SP-A MWLCPIAL---TLILMA---ASGAAC[EV]KDVQV---  
 SP-D MLEFLL-S---ALVLLI-TO-PLGYLEAEMKTYSE[RT]TPSACTLM-MC[SS]VES[QL]P[CRD]R[DG]H[EGE]R[GE]KG  
 CL-L1 MNGEASLLRRNQFILLI[VL]FLIQ-IQSLGLDID[SE]P[IA]EV[CA]THTISH---GPKGD[DG]  
 CL-L2-1 MRGNLALVGVLLISLAF-I[SL]LPSGHPQPA[GD]DA---CSVQ[IL]LVH---GLKGDAG

EPC-----  
 SPGIPGTPGSHGILPGRDGR-----DQVKGDPPGPPGFMGPPG-----ETE-----  
 DPCLPGAAGQACMPGQACHVCPKGN[SV]CEP[CP]KGLTGPSGHPGPPGVPGPAGRE[GE]LGKQGNIGPQ GK  
 EKGDPCGECKHG---KVGRMGPKGIKGEIGDM[DR]GNIGKTGPICK-----  
 EKGDKGAPGRPG---RVGHTGEKGM[DK]GQK[SV]GRHGKIGPICS-----

QQLRGLQGH-----PGLGHP[CN]P[PS]G[SP]GPK  
 CPNNGLPGAPGVPE-----RGEKGE[PE]RGPPGL-  
 PGPKGEAGPKGEVCA[PG]MQ[SAG]ARGIAGEKGERGV[PE]RGVPCNAGAAGSAGAMGEQ[CS]PCARGPPGLK  
 KDKGEKGLLCIPGEKGNAG-----  
 KGEKGDSDIGPFPNCEPG-----

第5図

MBP      GQKCDPG-KSPDQDSIAA-----SERKALQTEMARIKKWLTESLCKQVGNKFFLTNGEIMIF  
 SP-A      ---FAHLDEELQATLHD---FRHQILQTRCALS-LQCSI-----MTVGEKVFSSNGQSIIF  
 SP-D      GDKGIPGDGAKGESGLPVPASLRQQVEALQGVQHLQAAFSQYKKVEIFPNQSVGEKIFKTAGFVKPF  
 CL-L1      -----IIVCDQGRYRKFFVGQLDISIARLKISMKFVKN---VIAGIRETEEKFFYIVQEEKNY  
 CL-L2-1      -----LPQEQSQLRKAIGEMDNQVSQLTSEIKFIKN---AVAGVRETESKIYILVKEEKRY

EKKVKAQVKFOASVATERNAAENGAIQNLI---KEE-AEELGITTEKTEGQFVDLTCNRLT-YTNWNEGEE  
 DAIQEAQARAGGRIVAVERNPEENEALASFMKKYNTY-AYVGLTEGSPGDEHYSDGTFVN-YTNWYRGEE  
 TEAQLLCQAGGQCLASERSAENAAALQOLVAKNEA-AEELSMTDSTKTEGKETPTGESIV-YSNWAPGEE  
 RESLTHCRIRGGMLAMPKDEAANTLIADYVAKSGFFRVFIQVNDLEREGQYMTDNTPLQNYSNWNEGEE  
 ADAQISQQGRGGTISMPKDEAANGIMAAVIAQAGLARVFIGINDLEKEGAFVYSDHSEMRFTFNKWRSGEE

NNAGSDEDCVLIQKNQWNDVPQSTSHLAVCEFP\*---  
 AGRG-KEQCCVEMYIDGQWNDNRNCLYSRLTICEF\*-----  
 NDDGSEDCVLEIFINCKWNDRAQGEKRLVUCEF\*-----  
 SDPYGHIEDCVEMISSGRWNTTECHITMYFVUCEFICKKK\*  
 NNAYDEEDCVEMVASSGWNVDVACHTTMYEMCEFDKENM\*

第6図

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26

28サイクル RT-PCR

35サイクル RT-PCR

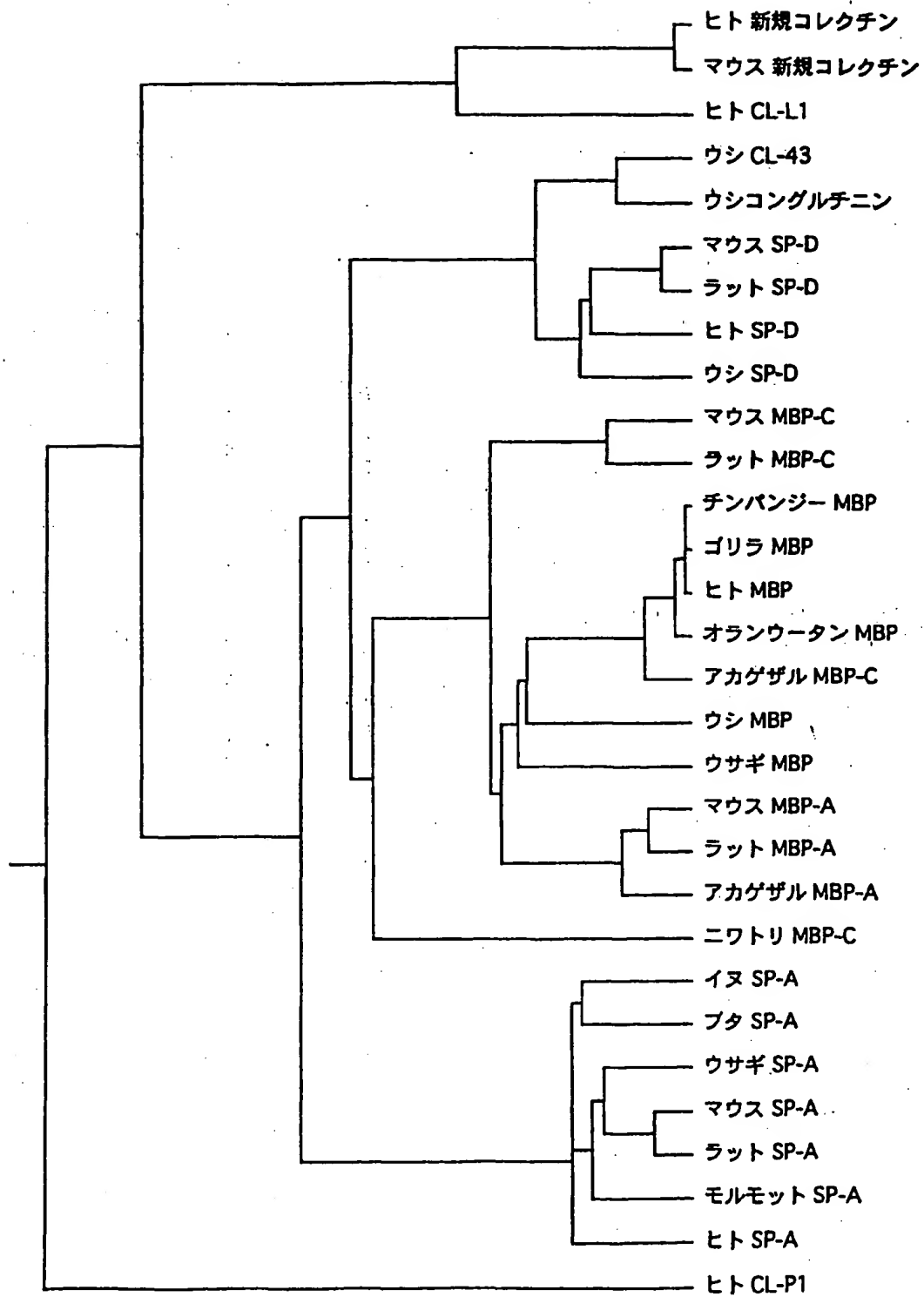
$\beta$ -アクトチン

1. 脳
2. 心臓
3. 腎臓
4. 肝臓
5. 肺
6. 気管
7. 骨髄
8. 大腸
9. 小腸
10. 脾臓

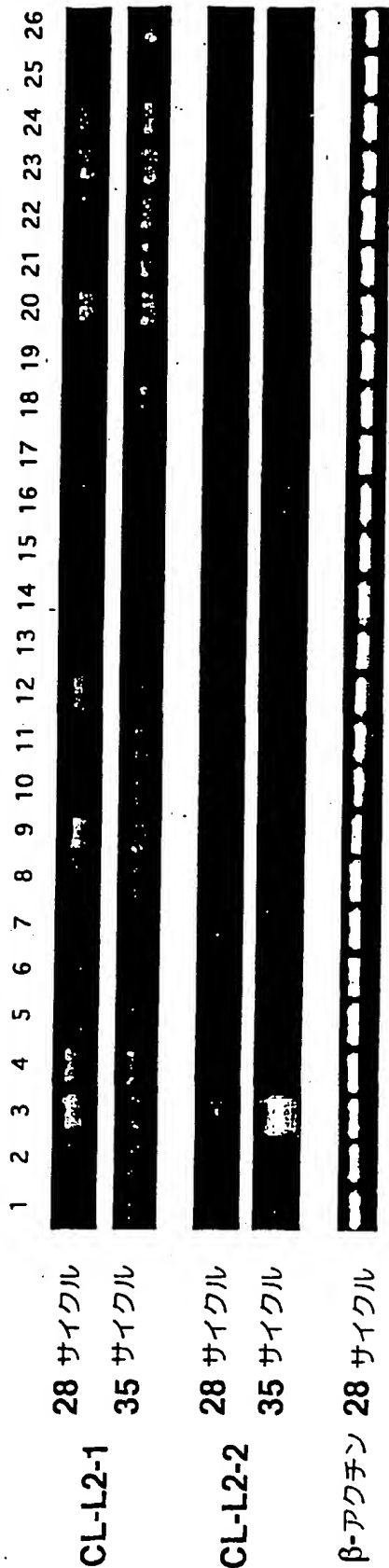
11. 胃
12. 胸腺
13. 乳腺
14. 前立腺
15. 骨格筋
16. 精巣
17. 子宮
18. 小脳
19. 胎児脳
20. 胎児肝臓

21. 脊髄
22. 胎盤
23. 副腎
24. 膵臓
25. 唾液腺
26. 甲状腺

第7図



第8図



- |        |          |         |
|--------|----------|---------|
| 1. 脳   | 11. 胃    | 21. 脊髄  |
| 2. 心臓  | 12. 胸腺   | 22. 胎盤  |
| 3. 腎臓  | 13. 乳腺   | 23. 副腎  |
| 4. 肝臓  | 14. 前立腺  | 24. 降膜  |
| 5. 肺   | 15. 骨格筋  | 25. 唾液腺 |
| 6. 気管  | 16. 精巣   | 26. 甲状腺 |
| 7. 骨髄  | 17. 子宮   |         |
| 8. 大腸  | 18. 小脳   |         |
| 9. 小腸  | 19. 胎児脳  |         |
| 10. 脾臓 | 20. 胎児肝臓 |         |

第9図

1 2 3 4 5 6



- 1:  $\alpha$ -D-マンノース BP-ブローフ
- 2:  $\alpha$ -L-フコース BP-ブローフ
- 3:  $\alpha$ -アセチルガラクトサミン BP-ブローフ
- 4:  $\alpha$ -アセチルノイラミン酸 BP-ブローフ
- 5:  $\alpha$ -D-マンノース-6-リン酸 BP-ブローフ
- 6: 負の対照

第10図

## SEQUENCE LISTING

&lt;110&gt; FUSO PHARMACEUTICAL INDUSTRIES, LTD.

&lt;120&gt; Novel Collectin

&lt;130&gt; 01P237W0

&lt;160&gt; 61

&lt;210&gt; 1

&lt;211&gt; 1341

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Homo Sapiens

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (265).. (1077)

&lt;400&gt; 1

```

cgcggccgcg tcgacggacg gtggacgcag cgcagacagg aagctccccg agataacgt      60
gcgcccgggc ggcctgattt gcctggcgtg ctgatggccc gggccgaggc ttctccctgc      120
gccctgggact gcggccgcct cctaaatag cagccatgag gcgctgggg gcagtgtcct      180
cgcggccgcg tcgacggacg gccgcagtcg acgccccgtt cgcctagcgc gtgtcagga      240
gttggtgtcc tgcctgcgtt cagg atg agg ggg aat ctg gcc ctg gtg ggc      291
                               Met Arg Gly Asn Leu Ala Leu Val Gly
                               1               5
gtt cta atc agc ctg gcc ttc ctg tca ctg ctg cca tct gga cat cct      339
Val Leu Ile Ser Leu Ala Phe Leu Ser Leu Leu Pro Ser Gly His Pro
  10               15               20               25
cag ccg gct ggc gat gac gcc tgc tct gtg cag atc ctc gtc cct ggc      387
Gln Pro Ala Gly Asp Asp Ala Cys Ser Val Gln Ile Leu Val Pro Gly
          30               35               40
ctc aaa ggg gat gcg gga gag aag gga gac aaa ggc gcc ccc gga cgg      435
Leu Lys Gly Asp Ala Gly Glu Lys Gly Asp Lys Gly Ala Pro Gly Arg
          45               50               55
cct gga aga gtc ggc ccc acg gga gaa aaa gga gac atg ggg gac aaa      483
Pro Gly Arg Val Gly Pro Thr Gly Glu Lys Gly Asp Met Gly Asp Lys
          60               65               70
gga cag aaa ggc agt gtg ggt cgt cat gga aaa att ggt ccc att ggc      531

```



aaatggccta tgcctaagag gaaaatgaaa ggttcctgg gggtcgtct cigaagaagc 1287  
 agagtttcat taccgtgatt gtagcccca tgcattatg taattattac ccag 1341

<210> 2

<211> 271

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<220>

<223> Deduced Amino Acid Sequence of Novel Collectin from Nucleotide  
 Sequence set out in SEQ ID NO:1.

<400> 2

Met	Arg	Gly	Asn	Leu	Ala	Leu	Val	Gly	Val	Leu	Ile	Ser	Leu	Ala	Phe
1				5				10					15		
Leu	Ser	Leu	Leu	Pro	Ser	Gly	His	Pro	Gln	Pro	Ala	Gly	Asp	Asp	Ala
		20				25				30					
Cys	Ser	Val	Gln	Ile	Leu	Val	Pro	Gly	Leu	Lys	Gly	Asp	Ala	Gly	Glu
	35				40					45					
Lys	Gly	Asp	Lys	Gly	Ala	Pro	Gly	Arg	Pro	Gly	Arg	Val	Gly	Pro	Thr
	50				55					60					
Gly	Glu	Lys	Gly	Asp	Met	Gly	Asp	Lys	Gly	Gln	Lys	Gly	Ser	Val	Gly
	65			70				75						80	
Arg	His	Gly	Lys	Ile	Gly	Pro	Ile	Gly	Ser	Lys	Gly	Glu	Lys	Gly	Asp
		85				90				95					
Ser	Gly	Asp	Ile	Gly	Pro	Pro	Gly	Pro	Asn	Gly	Glu	Pro	Gly	Leu	Pro
	100					105				110					
Cys	Glu	Cys	Ser	Gln	Leu	Arg	Lys	Ala	Ile	Gly	Glu	Met	Asp	Asn	Gln
	115					120				125					
Val	Ser	Gln	Leu	Thr	Ser	Glu	Leu	Lys	Phe	Ile	Lys	Asn	Ala	Val	Ala
	130					135				140					
Gly	Val	Arg	Glu	Thr	Glu	Ser	Lys	Ile	Tyr	Leu	Leu	Val	Lys	Glu	Glu
	145			150				155					160		
Lys	Arg	Tyr	Ala	Asp	Ala	Gln	Leu	Ser	Cys	Gln	Gly	Arg	Gly	Gly	Thr
		165				170				175					
Leu	Ser	Met	Pro	Lys	Asp	Glu	Ala	Ala	Asn	Gly	Leu	Met	Ala	Ala	Tyr
	180					185				190					
Leu	Ala	Gln	Ala	Gly	Leu	Ala	Arg	Val	Phe	Ile	Gly	Ile	Asn	Asp	Leu
	195					200				205					
Glu	Lys	Glu	Gly	Ala	Phe	Val	Tyr	Ser	Asp	His	Ser	Pro	Met	Arg	Thr

210	215	220
Phe Asn Lys Trp Arg Ser Gly Glu Pro Asn Asn Ala Tyr Asp Glu Glu		
225	230	235
Asp Cys Val Glu Met Val Ala Ser Gly Gly Trp Asn Asp Val Ala Cys		240
	245	250
His Thr Thr Met Tyr Phe Met Cys Glu Phe Asp Lys Glu Asn Met		255
	260	265
		270

&lt;210&gt; 3

&lt;211&gt; 1139

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Homo Sapiens

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (141).. (875)

&lt;400&gt; 3

cagaagtttt ggigaaagtg gcttggccc tgactttgtg gtagcgtgtg tgggtttgtg	60
agtggaaacct tcagcttttag gtggaaacg gttgctgtgg agagctggac ttttggctgt	120
ggaggtcacg tccctgccca atg tgg tgg gtg cct ccg agt ccc tac ggt tgt	173
Met Trp Trp Val Pro Pro Ser Pro Tyr Gly Cys	
1 5 10	
ctt ccc tgc gcc ctg cca ggg gat gcg gga gag aag gga gac aaa ggc	221
Leu Pro Cys Ala Leu Pro Gly Asp Ala Gly Glu Lys Gly Asp Lys Gly	
15 20 25	
gcc ccc gga cgg cct gga aga gtc ggc ccc acg gga gaa aaa gga gac	269
Ala Pro Gly Arg Pro Gly Arg Val Gly Pro Thr Gly Glu Lys Gly Asp	
30 35 40	
atg ggg gac aaa gga cag aaa ggc agt gtg ggt cgt cat gga aaa att	317
Met Gly Asp Lys Gly Gln Lys Gly Ser Val Gly Arg His Gly Lys Ile	
45 50 55	
ggt ccc att ggc tct aaa ggt gag aaa gga gat tcc ggt gac ata gga	365
Gly Pro Ile Gly Ser Lys Gly Glu Lys Gly Asp Ser Gly Asp Ile Gly	
60 65 70 75	
ccc cct ggt cct aat gga gaa cca ggc ctc cca tgt gag tgc agc cag	413
Pro Pro Gly Pro Asn Gly Glu Pro Gly Leu Pro Cys Glu Cys Ser Gln	
80 85 90	
ctg cgc aag gcc atc ggg gag atg gac aac cag gtc tct cag ctg acc	461
Leu Arg Lys Ala Ile Gly Glu Met Asp Asn Gln Val Ser Gln Leu Thr	

95	100	105	
agc gag ctc aag ttc atc aag aat gct gtc gcc ggt gtg cgc gag acg			509
Ser Glu Leu Lys Phe Ile Lys Asn Ala Val Ala Gly Val Arg Glu Thr			
110	115	120	
gag agc aag atc tac ctg ctg gtg aag gag gag aag cgc tac gcg gac			557
Glu Ser Lys Ile Tyr Leu Leu Val Lys Glu Glu Lys Arg Tyr Ala Asp			
125	130	135	
gcc cag ctg tcc tgc cag ggc cgc ggg ggc acg ctg agc atg ccc aag			605
Ala Gln Leu Ser Cys Gln Gly Arg Gly Gly Thr Leu Ser Met Pro Lys			
140	145	150	155
gac gag gct gcc aat ggc ctg atg gcc gca tac ctg gcg caa gcc ggc			653
Asp Glu Ala Ala Asn Gly Leu Met Ala Ala Tyr Leu Ala Gln Ala Gly			
160	165	170	
ctg gcc cgt gtc ttc atc ggc atc aac gac ctg gag aag gag ggc gcc			701
Leu Ala Arg Val Phe Ile Gly Ile Asn Asp Leu Glu Lys Glu Gly Ala			
175	180	185	
ttc gtg tac tct gac cac tcc ccc atg cgg acc ttc aac aag tgg cgc			749
Phe Val Tyr Ser Asp His Ser Pro Met Arg Thr Phe Asn Lys Trp Arg			
190	195	200	
agc ggt gag ccc aac aat gcc tac gac gag gag gac tgc gtg gag atg			797
Ser Gly Glu Pro Asn Asn Ala Tyr Asp Glu Glu Asp Cys Val Glu Met			
205	210	215	
gtg gcc tgc ggc ggc tgg aac gac gtg gcc tgc cac acc acc atg tac			845
Val Ala Ser Gly Gly Trp Asn Asp Val Ala Cys His Thr Thr Met Tyr			
220	225	230	235
ttc atg tgt gag ttt gac aag gag aac atg tgagcctcag gctggggctg			895
Phe Met Cys Glu Phe Asp Lys Glu Asn Met			
240	245		
cccatgggg gccccacatg tccctgcagg gtgggcaggg acagagccca gaccatggig			955
ccagccaggg agctgtccct ctgtgaaggg tggaggctca ctgagtagag ggctgtgtgc			1015
taaactgaga aaatggccta tgcttaagag gaaaatgaaa gtgttcctgg ggtgctgtct			1075
ctgaagaagc agagtttcat taccgttatt gtgccccaa tgtcattatg taattattac			1135
ccag			1139

&lt;210&gt; 4

&lt;211&gt; 245

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo Sapiens

&lt;220&gt;

<223> Deduced Amino Acid Sequence of Novel Collectin from Nucleotide Sequence set out in SEQ ID NO:3.

<400> 4

Met	Trp	Trp	Val	Pro	Pro	Ser	Pro	Tyr	Gly	Cys	Leu	Pro	Cys	Ala	Leu
1				5					10					15	
Pro	Gly	Asp	Ala	Gly	Glu	Lys	Gly	Asp	Lys	Gly	Ala	Pro	Gly	Arg	Pro
			20					25					30		
Gly	Arg	Val	Gly	Pro	Thr	Gly	Glu	Lys	Gly	Asp	Met	Gly	Asp	Lys	Gly
		35					40					45			
Gln	Lys	Gly	Ser	Val	Gly	Arg	His	Gly	Lys	Ile	Gly	Pro	Ile	Gly	Ser
	50					55					60				
Lys	Gly	Glu	Lys	Gly	Asp	Ser	Gly	Asp	Ile	Gly	Pro	Pro	Gly	Pro	Asn
	65				70				75					80	
Gly	Glu	Pro	Gly	Leu	Pro	Cys	Glu	Cys	Ser	Gln	Leu	Arg	Lys	Ala	Ile
			85					90					95		
Gly	Glu	Met	Asp	Asn	Gln	Val	Ser	Gln	Leu	Thr	Ser	Glu	Leu	Lys	Phe
		100						105					110		
Ile	Lys	Asn	Ala	Val	Ala	Gly	Val	Arg	Glu	Thr	Glu	Ser	Lys	Ile	Tyr
	115					120					125				
Leu	Leu	Val	Lys	Glu	Glu	Lys	Arg	Tyr	Ala	Asp	Ala	Gln	Leu	Ser	Cys
	130					135					140				
Gln	Gly	Arg	Gly	Gly	Thr	Leu	Ser	Met	Pro	Lys	Asp	Glu	Ala	Ala	Asn
	145				150					155				160	
Gly	Leu	Met	Ala	Ala	Tyr	Leu	Ala	Gln	Ala	Gly	Leu	Ala	Arg	Val	Phe
			165					170					175		
Ile	Gly	Ile	Asn	Asp	Leu	Glu	Lys	Glu	Gly	Ala	Phe	Val	Tyr	Ser	Asp
		180					185						190		
His	Ser	Pro	Met	Arg	Thr	Phe	Asn	Lys	Trp	Arg	Ser	Gly	Glu	Pro	Asn
	195						200					205			
Asn	Ala	Tyr	Asp	Glu	Glu	Asp	Cys	Val	Glu	Met	Val	Ala	Ser	Gly	Gly
	210					215				220					
Trp	Asn	Asp	Val	Ala	Cys	His	Thr	Thr	Met	Tyr	Phe	Met	Cys	Glu	Phe
	225				230					235				240	
Asp	Lys	Glu	Asn	Met											
				245											

<210> 5

<211> 995

<212> DNA

&lt;213&gt; Homo Sapiens

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (141).. (731)

&lt;400&gt; 5

cagaagtttt ggtgaaagtg gctttggccc tgactttgtg gtagcgtgtg tgggtttgtg	60
agtggaaacct tcagcttttag gttggaaacg gtggctgttg agagctggac ttttggctgt	120
ggaggtcacg tccctgccc atg tgg tgg gtg cct ccg agt ccc tac ggt tgt	173
Met Trp Trp Val Pro Pro Ser Pro Tyr Gly Cys	
1 5 10	
ctt ccc tgc gcc ctg cca ggt gag aaa gga gat tcc ggt gac ata gga	221
Leu Pro Cys Ala Leu Pro Gly Glu Lys Gly Asp Ser Gly Asp Ile Gly	
15 20 25	
ccc cct ggt cct aat gga gaa cca ggc ctg cca tgt gag tgc agc cag	269
Pro Pro Gly Pro Asn Gly Glu Pro Gly Leu Pro Cys Glu Cys Ser Gln	
30 35 40	
ctg cgc aag gcc atc ggg gag atg gac aac cag gtc tct cag ctg acc	317
Leu Arg Lys Ala Ile Gly Glu Met Asp Asn Gln Val Ser Gln Leu Thr	
45 50 55	
agc gag ctg aag ttc atc aag aat gct gtc gcc ggt gtg cgc gag acg	365
Ser Glu Leu Lys Phe Ile Lys Asn Ala Val Ala Gly Val Arg Glu Thr	
60 65 70 75	
gag agc aag atc tac ctg ctg gtg aag gag gag aag cgc tac gcg gac	413
Glu Ser Lys Ile Tyr Leu Leu Val Lys Glu Glu Lys Arg Tyr Ala Asp	
80 85 90	
gcc cag ctg tcc tgc cag ggc cgc ggg ggc acg ctg agc atg ccc aag	461
Ala Gln Leu Ser Cys Gln Gly Arg Gly Gly Thr Leu Ser Met Pro Lys	
95 100 105	
gac gag gct gcc aat ggc ctg atg gcc gca tac ctg gcg caa gcc ggc	509
Asp Glu Ala Ala Asn Gly Leu Met Ala Ala Tyr Leu Ala Gln Ala Gly	
110 115 120	
ctg gcc cgt gtc ttc atc ggc atc aac gac ctg gag aag gag ggc gcc	557
Leu Ala Arg Val Phe Ile Gly Ile Asn Asp Leu Glu Lys Glu Gly Ala	
125 130 135	
ttc gtg tac tct gac cac tcc ccc atg cgg acc ttc aac aag tgg cgc	605
Phe Val Tyr Ser Asp His Ser Pro Met Arg Thr Phe Asn Lys Trp Arg	
140 145 150 155	
agc ggt gag ccc aac aat gcc tac gac gag gag gac tgc gtg gag atg	653

Ser Gly Glu Pro Asn Asn Ala Tyr Asp Glu Glu Asp Cys Val Glu Met  
 160 165 170  
 gtg gcc tcg ggc ggc tgg aac gac gtg gcc tgc cac acc acc atg tac 701  
 Val Ala Ser Gly Gly Trp Asn Asp Val Ala Cys His Thr Thr Met Tyr  
 175 180 185  
 ttc atg tgt gag ttt gac aag gag aac atg tgagcctcag gctggggctg 751  
 Phe Met Cys Glu Phe Asp Lys Glu Asn Met  
 190 195  
 cccattgggg gccccacatg tccctgcagg gtgggcaggg acagagccca gaccatgggtg 811  
 ccagccaggg agctgtccct ctgtgaaggg tggaggctca ctgagtagag ggctgtgtgc 871  
 taaactigaga aaatggccta tgcttaagag gaaaatgaaa gtgttcctgg ggtgtgtgt 931  
 ctgaagaagc agagtttcat taccgtatt gtagcccaa tgtcattatg taattattac 991  
 ccag 995

&lt;210&gt; 6

&lt;211&gt; 197

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo Sapiens

&lt;220&gt;

<223> Deduced Amino Acid Sequence of Novel Collectin from Nucleotide  
 Sequence set out in SEQ ID NO:5.

&lt;400&gt; 6

Met Trp Trp Val Pro Pro Ser Pro Tyr Gly Cys Leu Pro Cys Ala Leu  
 1 5 10 15  
 Pro Gly Glu Lys Gly Asp Ser Gly Asp Ile Gly Pro Pro Gly Pro Asn  
 20 25 30  
 Gly Glu Pro Gly Leu Pro Cys Glu Cys Ser Gln Leu Arg Lys Ala Ile  
 35 40 45  
 Gly Glu Met Asp Asn Gln Val Ser Gln Leu Thr Ser Glu Leu Lys Phe  
 50 55 60  
 Ile Lys Asn Ala Val Ala Gly Val Arg Glu Thr Glu Ser Lys Ile Tyr  
 65 70 75 80  
 Leu Leu Val Lys Glu Glu Lys Arg Tyr Ala Asp Ala Gln Leu Ser Cys  
 85 90 95  
 Gln Gly Arg Gly Gly Thr Leu Ser Met Pro Lys Asp Glu Ala Ala Asn  
 100 105 110  
 Gly Leu Met Ala Ala Tyr Leu Ala Gln Ala Gly Leu Ala Arg Val Phe  
 115 120 125

Ile Gly Ile Asn Asp Leu Glu Lys Glu Gly Ala Phe Val Tyr Ser Asp  
 130 135 140  
 His Ser Pro Met Arg Thr Phe Asn Lys Trp Arg Ser Gly Glu Pro Asn  
 145 150 155 160  
 Asn Ala Tyr Asp Glu Glu Asp Cys Val Glu Met Val Ala Ser Gly Gly  
 165 170 175  
 Trp Asn Asp Val Ala Cys His Thr Thr Met Tyr Phe Met Cys Glu Phe  
 180 185 190  
 Asp Lys Glu Asn Met  
 195

&lt;210&gt; 7

&lt;211&gt; 1067

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Homo Sapiens

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (141)..(803)

&lt;400&gt; 7

cagaagtitt ggtgaaagtg gctttggccc tgactttgtg gtagcgtgtg tgggtttgtg 60  
 agtggaaacct tcagcttttag gtgggaaacg gtggctgttg agagctggac ttttggctgt 120  
 ggaggtcacg tccctgcccc atg tgg tgg gtg cct ccg agt ccc tac ggt tgt 173  
 Met Trp Trp Val Pro Pro Ser Pro Tyr Gly Cys  
 1 5 10  
 ctt ccc tgc gcc ctg cca gga gac atg ggg gac aaa gga cag aaa ggc 221  
 Leu Pro Cys Ala Leu Pro Gly Asp Met Gly Asp Lys Gly Gln Lys Gly  
 15 20 25  
 agt gtg ggt cgt cat gga aaa att ggt ccc att ggc tct aaa ggt gag 269  
 Ser Val Gly Arg His Gly Lys Ile Gly Pro Ile Gly Ser Lys Gly Glu  
 30 35 40  
 aaa gga gat tcc ggt gac ata gga ccc cct ggt cct aat gga gaa cca 317  
 Lys Gly Asp Ser Gly Asp Ile Gly Pro Pro Gly Pro Asn Gly Glu Pro  
 45 50 55  
 ggc ctc cca tgt gag tgc agc cag ctg cgc aag gcc atc ggg gag atg 365  
 Gly Leu Pro Cys Glu Cys Ser Gln Leu Arg Lys Ala Ile Gly Glu Met  
 60 65 70 75  
 gac aac cag gtc tct cag ctg acc agc gag ctc aag ttc atc aag aat 413  
 Asp Asn Gln Val Ser Gln Leu Thr Ser Glu Leu Lys Phe Ile Lys Asn

80	85	90	
gct gtc gcc ggt glg cgc gag acg gag agc aag atc tac ctg ctg gtg			461
Ala Val Ala Gly Val Arg Glu Thr Glu Ser Lys Ile Tyr Leu Leu Val			
95	100	105	
aag gag gag aag cgc tac gcg gac gcc cag ctg tcc tgc cag ggc cgc			509
Lys Glu Glu Lys Arg Tyr Ala Asp Ala Gln Leu Ser Cys Gln Gly Arg			
110	115	120	
ggg ggc acg ctg agc atg ccc aag gac gag gct gcc aat ggc ctg atg			557
Gly Gly Thr Leu Ser Met Pro Lys Asp Glu Ala Ala Asn Gly Leu Met			
125	130	135	
gcc gca tac ctg gcg caa gcc ggc ctg gcc cgt gtc ttc atc ggc atc			605
Ala Ala Tyr Leu Ala Gln Ala Gly Leu Ala Arg Val Phe Ile Gly Ile			
140	145	150	155
aac gac ctg gag aag gag ggc gcc ttc gtg tac tct gac cac tcc ccc			653
Asn Asp Leu Glu Lys Glu Gly Ala Phe Val Tyr Ser Asp His Ser Pro			
160	165	170	
atg cgg acc ttc aac aag tgg cgc agc ggt gag ccc aac aat gcc tac			701
Met Arg Thr Phe Asn Lys Trp Arg Ser Gly Glu Pro Asn Asn Ala Tyr			
175	180	185	
gac gag gag gac tgc gtg gag atg gtg gcc tgc ggc ggc tgg aac gac			749
Asp Glu Glu Asp Cys Val Glu Met Val Ala Ser Gly Gly Trp Asn Asp			
190	195	200	
gtg gcc tgc cac acc acc atg tac ttc atg tgt gag ttt gac aag gag			797
Val Ala Cys His Thr Thr Met Tyr Phe Met Cys Glu Phe Asp Lys Glu			
205	210	215	
aac atg tgagcctcag gctggggctg cccattgggg gccccacatg tccctgcagg			853
Asn Met			
220			
gttggcaggg acagagccca gaccatgggtg ccagccaggg agctgtccct ctgtgaaggg			913
tggaggctca ctgagtagag ggcgtgtgtc taaactgaga aaatggccta tgcttaagag			973
gaaaatgaaa ggttccctgg ggtgctgtct ctgaagaagc agagtttcat tacctgtatt			1033
gtagcccaa tgcattatg taattattac ccag			1067

&lt;210&gt; 8

&lt;211&gt; 221

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo Sapiens

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Deduced Amino Acid Sequence of Novel Collectin from Nucleotide

Sequence set out in SEQ ID NO:7.

<400> 8

Met	Trp	Trp	Val	Pro	Pro	Ser	Pro	Tyr	Gly	Cys	Leu	Pro	Cys	Ala	Leu
1				5					10					15	
Pro	Gly	Asp	Met	Gly	Asp	Lys	Gly	Gln	Lys	Gly	Ser	Val	Gly	Arg	His
		20						25					30		
Gly	Lys	Ile	Gly	Pro	Ile	Gly	Ser	Lys	Gly	Glu	Lys	Gly	Asp	Ser	Gly
	35						40					45			
Asp	Ile	Gly	Pro	Pro	Gly	Pro	Asn	Gly	Glu	Pro	Gly	Leu	Pro	Cys	Glu
	50					55					60				
Cys	Ser	Gln	Leu	Arg	Lys	Ala	Ile	Gly	Glu	Met	Asp	Asn	Gln	Val	Ser
65				70					75					80	
Gln	Leu	Thr	Ser	Glu	Leu	Lys	Phe	Ile	Lys	Asn	Ala	Val	Ala	Gly	Val
			85						90					95	
Arg	Glu	Thr	Glu	Ser	Lys	Ile	Tyr	Leu	Leu	Val	Lys	Glu	Glu	Lys	Arg
		100						105					110		
Tyr	Ala	Asp	Ala	Gln	Leu	Ser	Cys	Gln	Gly	Arg	Gly	Gly	Thr	Leu	Ser
	115						120					125			
Met	Pro	Lys	Asp	Glu	Ala	Ala	Asn	Gly	Leu	Met	Ala	Ala	Tyr	Leu	Ala
	130					135					140				
Gln	Ala	Gly	Leu	Ala	Arg	Val	Phe	Ile	Gly	Ile	Asn	Asp	Leu	Glu	Lys
145				150					155					160	
Glu	Gly	Ala	Phe	Val	Tyr	Ser	Asp	His	Ser	Pro	Met	Arg	Thr	Phe	Asn
		165						170					175		
Lys	Trp	Arg	Ser	Gly	Glu	Pro	Asn	Asn	Ala	Tyr	Asp	Glu	Glu	Asp	Cys
		180						185					190		
Val	Glu	Met	Val	Ala	Ser	Gly	Gly	Trp	Asn	Asp	Val	Ala	Cys	His	Thr
	195						200					205			
Thr	Met	Tyr	Phe	Met	Cys	Glu	Phe	Asp	Lys	Glu	Asn	Met			
	210					215					220				

<210> 9

<211> 1067

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (141) .. (803)

&lt;400&gt; 9

cagaagtitt ggigaaagtg gctttggccc tgactttgtg gtagcgtgtg tgggtttgtg	60
agtggaaacct tcagcitttag gtiggaacg gttggctgtg agagctggac ttttggctgt	120
ggaggtcacg tccctgccca atg tgg tgg gtg cct ccg agt ccc tac ggt tgt	173
Met Trp Trp Val Pro Pro Ser Pro Tyr Gly Cys	
1 5 10	
cit ccc tgc gcc ctg cca ggg gat gcg gga gag aag gga gac aaa ggc	221
Leu Pro Cys Ala Leu Pro Gly Asp Ala Gly Glu Lys Gly Asp Lys Gly	
15 20 25	
gcc ccc gga cgg cct gga aga gtc ggc ccc acg gga gaa aaa ggt gag	269
Ala Pro Gly Arg Pro Gly Arg Val Gly Pro Thr Gly Glu Lys Gly Glu	
30 35 40	
aaa gga gat tcc ggt gac ata gga ccc cct ggt cct aat gga gaa cca	317
Lys Gly Asp Ser Gly Asp Ile Gly Pro Pro Gly Pro Asn Gly Glu Pro	
45 50 55	
ggc ctg cca tgt gag tgc agc cag ctg cgc aag gcc atc ggg gag atg	365
Gly Leu Pro Cys Glu Cys Ser Gln Leu Arg Lys Ala Ile Gly Glu Met	
60 65 70 75	
gac aac cag gtc tct cag ctg acc agc gag ctg aag ttc atc aag aat	413
Asp Asn Gln Val Ser Gln Leu Thr Ser Glu Leu Lys Phe Ile Lys Asn	
80 85 90	
gct gtc gcc ggt gtg cgc gag acg gag agc aag atc tac ctg ctg gtg	461
Ala Val Ala Gly Val Arg Glu Thr Glu Ser Lys Ile Tyr Leu Leu Val	
95 100 105	
aag gag gag aag cgc tac gcg gac gcc cag ctg tcc tgc cag ggc cgc	509
Lys Glu Glu Lys Arg Tyr Ala Asp Ala Gln Leu Ser Cys Gln Gly Arg	
110 115 120	
ggg ggc acg ctg agc atg ccc aag gac gag gct gcc aat ggc ctg atg	557
Gly Gly Thr Leu Ser Met Pro Lys Asp Glu Ala Ala Asn Gly Leu Met	
125 130 135	
gcc gca tac ctg gcg caa gcc ggc ctg gcc cgt gtc ttc atc ggc atc	605
Ala Ala Tyr Leu Ala Gln Ala Gly Leu Ala Arg Val Phe Ile Gly Ile	
140 145 150 155	
aac gac ctg gag aag gag ggc gcc ttc gtg tac tct gac cac tcc ccc	653
Asn Asp Leu Glu Lys Glu Gly Ala Phe Val Tyr Ser Asp His Ser Pro	
160 165 170	
atg cgg acc ttc aac aag tgg cgc agc ggt gag ccc aac aat gcc tac	701
Met Arg Thr Phe Asn Lys Trp Arg Ser Gly Glu Pro Asn Asn Ala Tyr	
175 180 185	

gac gag gag gac tgc gtg gag atg gig gcc tgc ggc ggc tgg aac gac 749  
 Asp Glu Glu Asp Cys Val Glu Met Val Ala Ser Gly Gly Trp Asn Asp  
 190 195 200  
 gtg gcc tgc cac acc acc atg tac ttc atg tgt gag ttt gac aag gag 797  
 Val Ala Cys His Thr Thr Met Tyr Phe Met Cys Glu Phe Asp Lys Glu  
 205 210 215  
 aac atg tgagcctcag gcctggggctg cccattgggg gccccacatg tccctgcagg 853  
 Asn Met  
 220  
 gttaggcaggg acagagccca gaccatggig ccagccaggg agcigtccct cigtgaaggg 913  
 tggaggctca ctgagtagag ggcgtgtgc taaactgaga aaatggccta tgcttaagag 973  
 gaaaatgaaa gtgttcttgg ggtgctgtct ctgaagaagc agagtttcat tacctgtatt 1033  
 gttagcccaa tgcattatg taattattac ccag 1067

&lt;210&gt; 10

&lt;211&gt; 221

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo Sapiens

&lt;220&gt;

<223> Deduced Amino Acid Sequence of Novel Collectin from Nucleotide  
 Sequence set out in SEQ ID NO:9.

&lt;400&gt; 10

Met Trp Trp Val Pro Pro Ser Pro Tyr Gly Cys Leu Pro Cys Ala Leu  
 1 5 10 15  
 Pro Gly Asp Ala Gly Glu Lys Gly Asp Lys Gly Ala Pro Gly Arg Pro  
 20 25 30  
 Gly Arg Val Gly Pro Thr Gly Glu Lys Gly Glu Lys Gly Asp Ser Gly  
 35 40 45  
 Asp Ile Gly Pro Pro Gly Pro Asn Gly Glu Pro Gly Leu Pro Cys Glu  
 50 55 60  
 Cys Ser Gln Leu Arg Lys Ala Ile Gly Glu Met Asp Asn Gln Val Ser  
 65 70 75 80  
 Gln Leu Thr Ser Glu Leu Lys Phe Ile Lys Asn Ala Val Ala Gly Val  
 85 90 95  
 Arg Glu Thr Glu Ser Lys Ile Tyr Leu Leu Val Lys Glu Glu Lys Arg  
 100 105 110  
 Tyr Ala Asp Ala Gln Leu Ser Cys Gln Gly Arg Gly Gly Thr Leu Ser  
 115 120 125

Met Pro Lys Asp Glu Ala Ala Asn Gly Leu Met Ala Ala Tyr Leu Ala  
 130 135 140  
 Gln Ala Gly Leu Ala Arg Val Phe Ile Gly Ile Asn Asp Leu Glu Lys  
 145 150 155 160  
 Glu Gly Ala Phe Val Tyr Ser Asp His Ser Pro Met Arg Thr Phe Asn  
 165 170 175  
 Lys Trp Arg Ser Gly Glu Pro Asn Asn Ala Tyr Asp Glu Glu Asp Cys  
 180 185 190  
 Val Glu Met Val Ala Ser Gly Gly Trp Asn Asp Val Ala Cys His Thr  
 195 200 205  
 Thr Met Tyr Phe Met Cys Glu Phe Asp Lys Glu Asn Met  
 210 215 220

&lt;210&gt; 11

&lt;211&gt; 45

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo Sapiens

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Deduced Amino Acid Sequence of a collagen-like domain of mutated Novel Collectin.

&lt;400&gt; 11

Gly Asp Ala Gly Glu Lys Gly Asp Lys Gly Ala Pro Gly Arg Pro Gly  
 1 5 10 15  
 Arg Val Gly Pro Thr Gly Glu Lys Gly Glu Lys Gly Asp Ser Gly Asp  
 20 25 30  
 Ile Gly Pro Pro Gly Pro Asn Gly Glu Pro Gly Leu Pro  
 35 40 45

&lt;210&gt; 12

&lt;211&gt; 1522

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Mus musculus

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (157).. (969)

&lt;400&gt; 12

cagcccagcg aatctctctg agctggactg cagctggctt ctgtaaataa cagccatgag	60
gctccttggg gcagtgcttc tgccagccgg tgactgtcag gacagctcct tcgcctagt	120
tgcatccagg agictagigt ccigccigca ctcatg atg atg agg gac ctg gct	174
Met Met Arg Asp Leu Ala	
1 5	
ctt gca ggc atg ctg att agc ctg gct ttc ctg tcc ctg ctg cca tct	222
Leu Ala Gly Met Leu Ile Ser Leu Ala Phe Leu Ser Leu Leu Pro Ser	
10 15 20	
gga tgt cct cag cag acc aca gag gac gcc tgc tct gtg cag att ctt	270
Gly Cys Pro Gln Gln Thr Thr Glu Asp Ala Cys Ser Val Gln Ile Leu	
25 30 35	
gtc ccc ggc ctg aaa ggg gat gca gga gaa aag gga gac aaa gga gcc	318
Val Pro Gly Leu Lys Gly Asp Ala Gly Glu Lys Gly Asp Lys Gly Ala	
40 45 50	
cca gga cgg cca gga aga gtc ggc cct aca gga gaa aaa gga gac atg	366
Pro Gly Arg Pro Gly Arg Val Gly Pro Thr Gly Glu Lys Gly Asp Met	
55 60 65 70	
ggg gac aaa gga cag aaa ggc act gtg ggc cgc cat gga aaa att ggt	414
Gly Asp Lys Gly Gln Lys Gly Thr Val Gly Arg His Gly Lys Ile Gly	
75 80 85	
ccc att ggc gca aaa ggt gaa aaa gga gat tct ggt gat atc gga ccc	462
Pro Ile Gly Ala Lys Gly Glu Lys Gly Asp Ser Gly Asp Ile Gly Pro	
90 95 100	
cct ggc ccc agt gga gaa cct ggt att cca tgt gag tgc agt cag ctg	510
Pro Gly Pro Ser Gly Glu Pro Gly Ile Pro Cys Glu Cys Ser Gln Leu	
105 110 115	
agg aag gct att ggg gag atg gac aac cag gtc act caa ctg aca act	558
Arg Lys Ala Ile Gly Glu Met Asp Asn Gln Val Thr Gln Leu Thr Thr	
120 125 130	
gag cta aaa ttc ata aaa aat gct gtt gct ggc gtg cgc gag act gag	606
Glu Leu Lys Phe Ile Lys Asn Ala Val Ala Gly Val Arg Glu Thr Glu	
135 140 145 150	
agc aag atc tac ctg ctg gtg aag gag gag aag cgg tac gca gat gcc	654
Ser Lys Ile Tyr Leu Leu Val Lys Glu Glu Lys Arg Tyr Ala Asp Ala	
155 160 165	
cag ctg tcc tgc caa gcc cga ggc ggc aca ctg agc atg ccc aaa gac	702
Gln Leu Ser Cys Gln Ala Arg Gly Gly Thr Leu Ser Met Pro Lys Asp	
170 175 180	
gag gca gcc aat ggc ctg atg gct tca tac ctg gca cag gct ggc ctg	750
Glu Ala Ala Asn Gly Leu Met Ala Ser Tyr Leu Ala Gln Ala Gly Leu	

185	190	195	
gcc cga gtc ttc atc ggt atc aat gac ctg gag aaa gaa ggt gct ttc			798
Ala Arg Val Phe Ile Gly Ile Asn Asp Leu Glu Lys Glu Gly Ala Phe			
200	205	210	
gtg tac tcg gac cgc tcc ccc atg cag acc ttc aac aag tgg cgc agt			846
Val Tyr Ser Asp Arg Ser Pro Met Gln Thr Phe Asn Lys Trp Arg Ser			
215	220	225	230
gga gag ccc aac aac gcc tat gat gag gag gac tgt gtg gag atg gtg			894
Gly Glu Pro Asn Asn Ala Tyr Asp Glu Glu Asp Cys Val Glu Met Val			
235	240	245	
gcc tca ggt ggc tgg aat gat gtg gcc tgc cac att acc atg tac ttc			942
Ala Ser Gly Gly Trp Asn Asp Val Ala Cys His Ile Thr Met Tyr Phe			
250	255	260	
atg tgc gag ttt gac aaa gag aac ttg tgagagccga caggggagat			989
Met Cys Glu Phe Asp Lys Glu Asn Leu			
265	270		
ggccatctga acgccacctt ttatagacac cagcggccac aaactaacc ttgagcaccag			1049
tcgccaatgic tgcgggttcc tctctgcatg gaagtgccgg gccicatga cagtiggaag			1109
ggctgtttga accgtaggag gggagaaacc ttgcttccgg ggctgttctg aatagggtggc			1169
gtattatcac cttgttcaga cgttcattat ggctaaccac tcggaaggat gctgtgaagc			1229
tcttgtcttg gtccagcata gtaaatittg cagcagicat caaactggct ataggggcag			1289
gagttgccgc ccaccctata aagtacacag agtccccagg tggtagacaa tgtttctata			1349
ggttatgcta tcacatagat tcttttact attatccggg taggaagact gctgtcttgc			1409
ttcacatcca tatttcagga aaacaaataa atcctctgat ttctgctaaa aaaaaaaaaa			1469
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaa			1522

&lt;210&gt; 13

&lt;211&gt; 271

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Mus musculus

&lt;220&gt;

<223> Deduced Amino Acid Sequence of Novel Collectin from Nucleotide Sequence set out in SEQ ID NO:12.

&lt;400&gt; 13

Met Met Arg Asp Leu Ala Leu Ala Gly Met Leu Ile Ser Leu Ala Phe

1

5

10

15

Leu Ser Leu Leu Pro Ser Gly Cys Pro Gln Gln Thr Thr Glu Asp Ala

20

25

30

Cys Ser Val Gln Ile Leu Val Pro Gly Leu Lys Gly Asp Ala Gly Glu  
           35                          40                          45  
 Lys Gly Asp Lys Gly Ala Pro Gly Arg Pro Gly Arg Val Gly Pro Thr  
           50                          55                          60  
 Gly Glu Lys Gly Asp Met Gly Asp Lys Gly Gln Lys Gly Thr Val Gly  
           65                          70                          75                          80  
 Arg His Gly Lys Ile Gly Pro Ile Gly Ala Lys Gly Glu Lys Gly Asp  
                           85                          90                          95  
 Ser Gly Asp Ile Gly Pro Pro Gly Pro Ser Gly Glu Pro Gly Ile Pro  
                           100                          105                          110  
 Cys Glu Cys Ser Gln Leu Arg Lys Ala Ile Gly Glu Met Asp Asn Gln  
           115                          120                          125  
 Val Thr Gln Leu Thr Thr Glu Leu Lys Phe Ile Lys Asn Ala Val Ala  
           130                          135                          140  
 Gly Val Arg Glu Thr Glu Ser Lys Ile Tyr Leu Leu Val Lys Glu Glu  
           145                          150                          155                          160  
 Lys Arg Tyr Ala Asp Ala Gln Leu Ser Cys Gln Ala Arg Gly Gly Thr  
                           165                          170                          175  
 Leu Ser Met Pro Lys Asp Glu Ala Ala Asn Gly Leu Met Ala Ser Tyr  
                           180                          185                          190  
 Leu Ala Gln Ala Gly Leu Ala Arg Val Phe Ile Gly Ile Asn Asp Leu  
           195                          200                          205  
 Glu Lys Glu Gly Ala Phe Val Tyr Ser Asp Arg Ser Pro Met Gln Thr  
           210                          215                          220  
 Phe Asn Lys Trp Arg Ser Gly Glu Pro Asn Asn Ala Tyr Asp Glu Glu  
           225                          230                          235                          240  
 Asp Cys Val Glu Met Val Ala Ser Gly Gly Trp Asn Asp Val Ala Cys  
                           245                          250                          255  
 His Ile Thr Met Tyr Phe Met Cys Glu Phe Asp Lys Glu Asn Leu  
                           260                          265                          270

<210> 14

<211> 159

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Known CRD amino acid sequence of reported CL-L1 which was employed for searching EST data base.

&lt;400&gt; 14

Cys Asp Cys Gly Arg Tyr Arg Lys Phe Val Gly Gln Leu Asp Ile Ser  
 1 5 10 15  
 Ile Ala Arg Leu Lys Thr Ser Met Lys Phe Val Lys Asn Val Ile Ala  
 20 25 30  
 Gly Ile Arg Glu Thr Glu Glu Lys Phe Tyr Tyr Ile Val Gln Glu Glu  
 35 40 45  
 Lys Asn Tyr Arg Glu Ser Leu Thr His Cys Arg Ile Arg Gly Gly Met  
 50 55 60  
 Leu Ala Met Pro Lys Asp Glu Ala Ala Asn Thr Leu Ile Ala Asp Tyr  
 65 70 75 80  
 Val Ala Lys Ser Gly Phe Phe Arg Val Phe Ile Gly Val Asn Asp Leu  
 85 90 95  
 Glu Arg Glu Gly Gln Tyr Met Phe Thr Asp Asn Thr Pro Leu Gln Asn  
 100 105 110  
 Tyr Ser Asn Trp Asn Glu Gly Glu Pro Ser Asp Pro Tyr Gly His Glu  
 115 120 125  
 Asp Cys Val Glu Met Leu Ser Ser Gly Arg Trp Asn Asp Thr Glu Cys  
 130 135 140  
 His Leu Thr Met Tyr Phe Val Cys Glu Phe Ile Lys Lys Lys Lys  
 145 150 155

&lt;210&gt; 15

&lt;211&gt; 619

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

<223> Consensus nucleotide sequence of novel collectin derived from several nucleotide sequences obtained from EST data base.

&lt;400&gt; 15

ttctcagaatg attcctgtgc atggcgaagt ttggaaactc tgagtgttgc ttttgagatc 60  
 agacatacag tgctatccat tggtgccctc gtggaggatg gaacttactt gttagactNNt 120  
 gccacaccac catgtacttc atgtgtgagt ttgacaagga gaacatgtga cccctaggct 180  
 ggggctgccc attggggggc ccacatgtcc ctgcagggtt ggcagggaca gagcccagac 240  
 catggtgcca gccaggggagc tgtccctctg tgaagggtgg aggctcacig agtagagggc 300  
 tgttgtctaa actgagaaaa tggcctatgc ttaagaggaa aatgaaagtg ttccctggggt 360  
 gctgtctctg aagaagcaga gtltcattac ctgtattgla gcccacatgt cattatgtaa 420  
 ttattacca gaattgctct tccataaagc ttgtgccctt giccaaagcta tacaataaaa 480

tctttaagta gtcagtagt taagtc meta aagtggaat ggggtctga aaaaaaaaaa 540  
aaaaatttat aaaaaaaaaa gaactcacit tgaccaacac ttctgtaaat tacattacaa 600  
tataggttcc ttcacacta 619

<210> 16

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic primer CAP1 for cloning 5'-upstream region of novel collectin.

<400> 16

agattttatt gtaagcttg g 21

<210> 17

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic primer CAP2 for cloning 5'-upstream region of novel collectin.

<400> 17

ctgggtaata attacataat g 21

<210> 18

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic primer  $\lambda$ TriplEx-F1 for cloning 5'-upstream region of novel collectin.

<400> 18

aagctccgag atctggacga g 21

<210> 19

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic primer  $\lambda$ TriplEx-F2 for cloning 5'-upstream region of novel collection.

<400> 19

ctcgggaagc gcgccattgt g

21

<210> 20

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic M13 Universal primer for sequencing novel collection.

<400> 20

cgacgttgta aaacgacggc cagt

24

<210> 21

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic M13 Reverse primer for sequencing novel collection.

<400> 21

caggaaacag ctatgac

17

<210> 22

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic primer CAP3 for further cloning of 5'-upstream region of novel collectin.

<400> 22

ggtcctatgt caccggaatc

20

<210> 23

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic primer CAP4 for further cloning of 5'-upstream region of novel collectin.

<400> 23

ttccatgacg acccacactg c

21

<210> 24

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic primer 1RC2 for further cloning of 5'-upstream region of novel collectin.

<400> 24

caaggtacgc cacagcgtat g

21

<210> 25

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic primer 2RC2 for further cloning of 5'-upstream region of novel collectin.

<400> 25

gtacgccaca gcgtatgatg c

21

<210> 26

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic primer RTF1 for RT-PCR to determine tissue distribution of novel collectin.

<400> 26

agattccggt gacataggac c

21

<210> 27

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic primer RTR1 for RT-PCR to determine tissue distribution of novel collectin.

<400> 27

tggtctgggc tctgtccctg c

21

<210> 28

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic  $\beta$ -actin sense primer for RT-PCR to determine control level.

<400> 28

caagagaatgg ccacggctgc t

21

<210> 29

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic  $\beta$ -actin anti-sense primer for RT-PCR to determine control level.

<400> 29

tccttcigca tcctgicggc a

21

<210> 30

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic primer RTF2 for amplification of CL-L2-1.

<400> 30

atgaggggga atctggccct ggtg

24

<210> 31

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic primer RTR2 for amplification of CL-L2-1.

<400> 31

catgtctcct ttgtcaaact cac

23

<210> 32

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic primer RTF3 for amplification of CL-L2-2.

<400> 32

atgtgggtggg tgcctccgag tc

22

<210> 33

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic primer CL-L2-1F for amplification of CL-L2-1.

<400> 33

gggaagcttc gatcaggatg agggggaatc tggccctggg g

41

<210> 34

<211> 32

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic primer CL-L2-1R for amplification of CL-L2-1.

<400> 34

gggctcgagc atgttcicct tgcacaaac ac

32

<210> 35

<211> 46

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic primer CL-L2-2F for amplification of CL-L2-2.

<400> 35

gggaagcttc cagcacaatg tgggtgggtgc ctccgagtc ctggg

46

<210> 36

<211> 1197

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (265).. (933)

&lt;400&gt; 36

```

cgccggccgcg tcgacggacg gtggacgcag cgcagacagg aagctccccg agataacgct      60
gcggccggggc ggccctgatit gctgggcigt ctgatggccc gggccgaggc ttctccctgc      120
gccctgggact gcggccgcct ctctaaatag cagccatgag gcgcctgggg gcagtgicct      180
cgccggccgcg tcgaccgacg gccgcagtcg acgccccgtt cgcctagcgc gtgctcagga      240
gttggigtcc tgcctgcgct cagg atg agg ggg aat ctg gcc ctg gtg ggc      291
                               Met Arg Gly Asn Leu Ala Leu Val Gly
                               1                               5

ggt cia atc agc ctg gcc ttc ctg tca ctg ctg cca tct gga cat cct      339
Val Leu Ile Ser Leu Ala Phe Leu Ser Leu Leu Pro Ser Gly His Pro
  10                               15                               20                               25
cag ccg gct ggc gat gac gcc tgc tct gtg cag atc ctg gtc cct ggc      387
Gln Pro Ala Gly Asp Asp Ala Cys Ser Val Gln Ile Leu Val Pro Gly
                               30                               35                               40
ctc aaa ggt gag aaa gga gat tcc ggt gac ata gga ccc cct ggt cct      435
Leu Lys Gly Glu Lys Gly Asp Ser Gly Asp Ile Gly Pro Pro Gly Pro
                               45                               50                               55
aat gga gaa cca ggc ctg cca tgt gag tgc agc cag ctg cgc aag gcc      483
Asn Gly Glu Pro Gly Leu Pro Cys Glu Cys Ser Gln Leu Arg Lys Ala
                               60                               65                               70
atc ggg gag atg gac aac cag gtc tct cag ctg acc agc gag ctg aag      531
Ile Gly Glu Met Asp Asn Gln Val Ser Gln Leu Thr Ser Glu Leu Lys
                               75                               80                               85
ttc atc aag aat gct gtc gcc ggt gtg cgc gag acg gag agc aag atc      579
Phe Ile Lys Asn Ala Val Ala Gly Val Arg Glu Thr Glu Ser Lys Ile
                               90                               95                               100                               105
tac ctg ctg gtg aag gag gag aag cgc tac gcg gac gcc cag ctg tcc      627
Tyr Leu Leu Val Lys Glu Glu Lys Arg Tyr Ala Asp Ala Gln Leu Ser
                               110                               115                               120
tgc cag ggc cgc ggg ggc acg ctg agc atg ccc aag gac gag gct gcc      675
Cys Gln Gly Arg Gly Gly Thr Leu Ser Met Pro Lys Asp Glu Ala Ala
                               125                               130                               135
aat ggc ctg atg gcc gca tac ctg gcg caa gcc ggc ctg gcc cgt gtc      723
Asn Gly Leu Met Ala Ala Tyr Leu Ala Gln Ala Gly Leu Ala Arg Val
                               140                               145                               150

```

ttc atc ggc atc aac gac ctg gag aag gag ggc gcc ttc gtg tac tct 771  
 Phe Ile Gly Ile Asn Asp Leu Glu Lys Glu Gly Ala Phe Val Tyr Ser  
 155 160 165  
 gac cac tcc ccc atg cgg acc ttc aac aag tgg cgc agc ggt gag ccc 819  
 Asp His Ser Pro Met Arg Thr Phe Asn Lys Trp Arg Ser Gly Glu Pro  
 170 175 180 185  
 aac aat gcc tac gac gag gag gac tgc gtg gag atg gtg gcc tgc ggc 867  
 Asn Asn Ala Tyr Asp Glu Glu Asp Cys Val Glu Met Val Ala Ser Gly  
 190 195 200  
 ggc tgg aac gac gtg gcc tgc cac acc acc atg tac ttc atg tgt gag 915  
 Gly Trp Asn Asp Val Ala Cys His Thr Thr Met Tyr Phe Met Cys Glu  
 205 210 215  
 ttt gac aag gag aac atg tgagcctcag gctggggctg cccattgggg 963  
 Phe Asp Lys Glu Asn Met  
 220  
 gccccacatg tccctgcagg gttaggcaggg acagagccca gaccatgggtg ccagccaggg 1023  
 agctgtccct ctgtgaaggg tggaggctca ctgagtagag ggcgtgtgtc taaactgaga 1083  
 aaatggccta tgcitaagag gaaaatgaaa ggttccctgg ggtgctgtct ctgaagaagc 1143  
 agagtttcat tacctgtatt gttagcccaa tgtcattaig taattattac ccag 1197

&lt;210&gt; 37

&lt;211&gt; 223

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo Sapiens

&lt;220&gt;

<223> Deduced Amino Acid Sequence of Novel Collectin variant from Nucleo-  
 tide Sequence set out in SEQ ID NO:36.

&lt;400&gt; 37

Met Arg Gly Asn Leu Ala Leu Val Gly Val Leu Ile Ser Leu Ala Phe  
 1 5 10 15  
 Leu Ser Leu Leu Pro Ser Gly His Pro Gln Pro Ala Gly Asp Asp Ala  
 20 25 30  
 Cys Ser Val Gln Ile Leu Val Pro Gly Leu Lys Gly Glu Lys Gly Asp  
 35 40 45  
 Ser Gly Asp Ile Gly Pro Pro Gly Pro Asn Gly Glu Pro Gly Leu Pro  
 50 55 60  
 Cys Glu Cys Ser Gln Leu Arg Lys Ala Ile Gly Glu Met Asp Asn Gln  
 65 70 75 80

Val Ser Gln Leu Thr Ser Glu Leu Lys Phe Ile Lys Asn Ala Val Ala  
                             85                            90                            95  
 Gly Val Arg Glu Thr Glu Ser Lys Ile Tyr Leu Leu Val Lys Glu Glu  
                             100                            105                            110  
 Lys Arg Tyr Ala Asp Ala Gln Leu Ser Cys Gln Gly Arg Gly Gly Thr  
                             115                            120                            125  
 Leu Ser Met Pro Lys Asp Glu Ala Ala Asn Gly Leu Met Ala Ala Tyr  
                             130                            135                            140  
 Leu Ala Gln Ala Gly Leu Ala Arg Val Phe Ile Gly Ile Asn Asp Leu  
 145                            150                            155                            160  
 Glu Lys Glu Gly Ala Phe Val Tyr Ser Asp His Ser Pro Met Arg Thr  
                             165                            170                            175  
 Phe Asn Lys Trp Arg Ser Gly Glu Pro Asn Asn Ala Tyr Asp Glu Glu  
                             180                            185                            190  
 Asp Cys Val Glu Met Val Ala Ser Gly Gly Trp Asn Asp Val Ala Cys  
                             195                            200                            205  
 His Thr Thr Met Tyr Phe Met Cys Glu Phe Asp Lys Glu Asn Met  
                             210                            215                            220

&lt;210&gt; 38

&lt;211&gt; 1269

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Homo Sapiens

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (265).. (1005)

&lt;400&gt; 38

cgcgccgcgcg tcgacggacg gtggacgcag cgcagacagg aagctccccg agataacgct 60  
 gcggccgggc ggccatgatt gctgggcgtg ctgatggccc gggccgaggc ttctccctgc 120  
 gcctgggact gcggccgcct ctctaaatag cagccatgag gcgctgggg gcagtgctct 180  
 cgcgccgcgcg tcgacggacg gccgcagtcg acgccccgtt cgcctagcgc gtgctcagga 240  
 gttggigtcc tgccitgcgt cagg atg agg ggg aat ctg gcc ctg gtg ggc 291  
                             Met Arg Gly Asn Leu Ala Leu Val Gly  
                             1                            5  
 gtt cta atc agc ctg gcc ttc ctg tca ctg ctg cca tct gga cat cct 339  
 Val Leu Ile Ser Leu Ala Phe Leu Ser Leu Leu Pro Ser Gly His Pro  
   10                            15                            20                            25  
 cag ccg gct ggc gat gac gcc tgc tct gtg cag atc ctc gtc cct ggc 387

Gln Pro Ala Gly Asp Asp Ala Cys Ser Val Gln Ile Leu Val Pro Gly	
30 35 40	
ctc aaa gga gac atg ggg gac aaa gga cag aaa ggc agt gtg ggt cgt	435
Leu Lys Gly Asp Met Gly Asp Lys Gly Gln Lys Gly Ser Val Gly Arg	
45 50 55	
cat gga aaa att ggt ccc att ggc tct aaa ggt gag aaa gga gat tcc	483
His Gly Lys Ile Gly Pro Ile Gly Ser Lys Gly Glu Lys Gly Asp Ser	
60 65 70	
ggt gac ata gga ccc cct ggt cct aat gga gaa cca ggc ctc cca tgt	531
Gly Asp Ile Gly Pro Pro Gly Pro Asn Gly Glu Pro Gly Leu Pro Cys	
75 80 85	
gag tgc agc cag ctg cgc aag gcc atc ggg gag atg gac aac cag gtc	579
Glu Cys Ser Gln Leu Arg Lys Ala Ile Gly Glu Met Asp Asn Gln Val	
90 95 100 105	
tct cag ctg acc agc gag ctc aag ttc atc aag aat gct gtc gcc ggt	627
Ser Gln Leu Thr Ser Glu Leu Lys Phe Ile Lys Asn Ala Val Ala Gly	
110 115 120	
gtg cgc gag acg gag agc aag atc tac ctg ctg gtg aag gag gag aag	675
Val Arg Glu Thr Glu Ser Lys Ile Tyr Leu Leu Val Lys Glu Glu Lys	
125 130 135	
cgc tac gcg gac gcc cag ctg tcc tgc cag ggc cgc ggg ggc acg ctg	723
Arg Tyr Ala Asp Ala Gln Leu Ser Cys Gln Gly Arg Gly Gly Thr Leu	
140 145 150	
agc atg ccc aag gac gag gct gcc aat ggc ctg atg gcc gca tac ctg	771
Ser Met Pro Lys Asp Glu Ala Ala Asn Gly Leu Met Ala Ala Tyr Leu	
155 160 165	
gcg caa gcc ggc ctg gcc cgt gtc ttc atc ggc atc aac gac ctg gag	819
Ala Gln Ala Gly Leu Ala Arg Val Phe Ile Gly Ile Asn Asp Leu Glu	
170 175 180 185	
aag gag ggc gcc ttc gtg tac tct gac cac tcc ccc atg cgg acc ttc	867
Lys Glu Gly Ala Phe Val Tyr Ser Asp His Ser Pro Met Arg Thr Phe	
190 195 200	
aac aag tgg cgc agc ggt gag ccc aac aat gcc tac gac gag gag gac	915
Asn Lys Trp Arg Ser Gly Glu Pro Asn Asn Ala Tyr Asp Glu Glu Asp	
205 210 215	
tgc gtg gag atg gtg gcc tgc ggc ggc tgg aac gac gtg gcc tgc cac	963
Cys Val Glu Met Val Ala Ser Gly Gly Trp Asn Asp Val Ala Cys His	
220 225 230	
acc acc atg tac ttc atg tgt gag ttt gac aag gag aac atg	1005
Thr Thr Met Tyr Phe Met Cys Glu Phe Asp Lys Glu Asn Met	

235	240	245	
tgagcctcag	gciggggctg	cccatigggg	gccccacatg tccctgcagg gttaggcagg 1065
acagagccca	gaccatggig	ccagccaggg	agctgtccct ctgtgaaggg tggaggctca 1125
ctgagtagag	ggctgtgtc	taaactgaga	aaatggccta tgcittaagag gaaaatgaaa 1185
gtgttcctgg	ggigtgtct	ctgaagaagc	agagtttcat taccgtatt gtagccccaa 1245
tgtcattaig	taattattac	ccag	1269

&lt;210&gt; 39

&lt;211&gt; 247

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo Sapiens

&lt;220&gt;

<223> Deduced Amino Acid Sequence of Novel Collectin variant from Nucleotide Sequence set out in SEQ ID NO:38.

&lt;400&gt; 39

Met	Arg	Gly	Asn	Leu	Ala	Leu	Val	Gly	Val	Leu	Ile	Ser	Leu	Ala	Phe
1				5					10					15	
Leu	Ser	Leu	Leu	Pro	Ser	Gly	His	Pro	Gln	Pro	Ala	Gly	Asp	Asp	Ala
		20					25						30		
Cys	Ser	Val	Gln	Ile	Leu	Val	Pro	Gly	Leu	Lys	Gly	Asp	Met	Gly	Asp
		35				40						45			
Lys	Gly	Gln	Lys	Gly	Ser	Val	Gly	Arg	His	Gly	Lys	Ile	Gly	Pro	Ile
		50				55				60					
Gly	Ser	Lys	Gly	Glu	Lys	Gly	Asp	Ser	Gly	Asp	Ile	Gly	Pro	Pro	Gly
		65			70				75				80		
Pro	Asn	Gly	Glu	Pro	Gly	Leu	Pro	Cys	Glu	Cys	Ser	Gln	Leu	Arg	Lys
			85					90					95		
Ala	Ile	Gly	Glu	Met	Asp	Asn	Gln	Val	Ser	Gln	Leu	Thr	Ser	Glu	Leu
		100					105					110			
Lys	Phe	Ile	Lys	Asn	Ala	Val	Ala	Gly	Val	Arg	Glu	Thr	Glu	Ser	Lys
		115				120					125				
Ile	Tyr	Leu	Leu	Val	Lys	Glu	Glu	Lys	Arg	Tyr	Ala	Asp	Ala	Gln	Leu
		130				135					140				
Ser	Cys	Gln	Gly	Arg	Gly	Gly	Thr	Leu	Ser	Met	Pro	Lys	Asp	Glu	Ala
		145			150					155				160	
Ala	Asn	Gly	Leu	Met	Ala	Ala	Tyr	Leu	Ala	Gln	Ala	Gly	Leu	Ala	Arg

	165		170		175										
Val	Phe	Ile	Gly	Ile	Asn	Asp	Leu	Glu	Lys	Gly	Ala	Phe	Val	Tyr	
	180				185					190					
Ser	Asp	His	Ser	Pro	Met	Arg	Thr	Phe	Asn	Lys	Trp	Arg	Ser	Gly	Glu
	195				200					205					
Pro	Asn	Asn	Ala	Tyr	Asp	Glu	Glu	Asp	Cys	Val	Glu	Met	Val	Ala	Ser
	210				215					220					
Gly	Gly	Trp	Asn	Asp	Val	Ala	Cys	His	Thr	Thr	Met	Tyr	Phe	Met	Cys
	225				230					235				240	
Glu	Phe	Asp	Lys	Glu	Asn	Met									
	245														

&lt;210&gt; 40

&lt;211&gt; 1269

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Homo Sapiens

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (265).. (1005)

&lt;400&gt; 40

cgcgccgcg	tcgacggacg	gtggacgcag	cgacagcagg	aagctccccg	agataacgct	60
gcgcccgggc	ggcctgatit	gctgggctgt	ctgatggccc	gggccgaggc	tcttccctgc	120
gcttgggact	gcggccgcct	ctctaaatag	cagccatgag	gcgcctgggg	gcagtgtcct	180
cgcgccgcg	tcgaccgacg	gccgcagtcg	acgccccgtt	cgccctagcg	gtgctcagga	240
gttgggtgtc	tgccctgcgt	cagg atg agg	ggg aat ctg	gcc ctg	gtg ggc	291

Met Arg Gly Asn Leu Ala Leu Val Gly

	1		5													
gtt	cta	atc	agc	ctg	gcc	ttc	ctg	tca	ctg	ctg	cca	tct	gga	cat	cct	339
Val	Leu	Ile	Ser	Leu	Ala	Phe	Leu	Ser	Leu	Leu	Pro	Ser	Gly	His	Pro	
10			15				20				25					
cag	ccg	gct	ggc	gat	gac	gcc	tgc	tct	gtg	cag	atc	ctc	gtc	cct	ggc	387
Gln	Pro	Ala	Gly	Asp	Asp	Ala	Cys	Ser	Val	Gln	Ile	Leu	Val	Pro	Gly	
			30				35				40					
ctc	aaa	ggg	gat	gcg	gga	gag	aag	gga	gac	aaa	ggc	gcc	ccc	gga	cgg	435
Leu	Lys	Gly	Asp	Ala	Gly	Glu	Lys	Gly	Asp	Lys	Gly	Ala	Pro	Gly	Arg	
			45				50				55					
cct	gga	aga	gtc	ggc	ccc	acg	gga	gaa	aaa	ggt	gag	aaa	gga	gat	tcc	483
Pro	Gly	Arg	Val	Gly	Pro	Thr	Gly	Glu	Lys	Gly	Glu	Lys	Gly	Asp	Ser	

60	65	70	
ggt gac ata gga ccc cct ggt cct aat gga gaa cca ggc ctc cca tgt			531
Gly Asp Ile Gly Pro Pro Gly Pro Asn Gly Glu Pro Gly Leu Pro Cys			
75	80	85	
gag tgc agc cag ctg cgc aag gcc atc ggg gag atg gac aac cag gtc			579
Glu Cys Ser Gln Leu Arg Lys Ala Ile Gly Glu Met Asp Asn Gln Val			
90	95	100	105
tct cag ctg acc agc gag ctc aag ttc atc aag aat gct gtc gcc ggt			627
Ser Gln Leu Thr Ser Glu Leu Lys Phe Ile Lys Asn Ala Val Ala Gly			
110	115	120	
gig cgc gag acg gag agc aag atc tac ctg ctg gtg aag gag gag aag			675
Val Arg Glu Thr Glu Ser Lys Ile Tyr Leu Leu Val Lys Glu Glu Lys			
125	130	135	
cgc tac gcg gac gcc cag ctg tcc tgc cag ggc cgc ggg ggc acg ctg			723
Arg Tyr Ala Asp Ala Gln Leu Ser Cys Gln Gly Arg Gly Gly Thr Leu			
140	145	150	
agc atg ccc aag gac gag gct gcc aat ggc ctg atg gcc gca tac ctg			771
Ser Met Pro Lys Asp Glu Ala Ala Asn Gly Leu Met Ala Ala Tyr Leu			
155	160	165	
gcg caa gcc ggc ctg gcc cgt gtc ttc atc ggc atc aac gac ctg gag			819
Ala Gln Ala Gly Leu Ala Arg Val Phe Ile Gly Ile Asn Asp Leu Glu			
170	175	180	185
aag gag ggc gcc ttc gtg tac tct gac cac tcc ccc atg cgg acc ttc			867
Lys Glu Gly Ala Phe Val Tyr Ser Asp His Ser Pro Met Arg Thr Phe			
190	195	200	
aac aag tgg cgc agc ggt gag ccc aac aat gcc tac gac gag gag gac			915
Asn Lys Trp Arg Ser Gly Glu Pro Asn Asn Ala Tyr Asp Glu Glu Asp			
205	210	215	
tgc gtg gag atg gtg gcc tcg ggc ggc tgg aac gac gtg gcc tgc cac			963
Cys Val Glu Met Val Ala Ser Gly Gly Trp Asn Asp Val Ala Cys His			
220	225	230	
acc acc atg tac ttc atg tgt gag ttt gac aag gag aac atg			1005
Thr Thr Met Tyr Phe Met Cys Glu Phe Asp Lys Glu Asn Met			
235	240	245	
tgagccicag gctggggctg cccatlgggg gccccacatg tccctgcagg gtltggcagg			1065
acagagccca gaccatgggtg ccagccaggg agctgtccct ctgtgaaggg tggaggctca			1125
ctgagtagag ggctgtgtc taaactgaga aaatggccta tgcctaagag gaaaatgaaa			1185
gigticctgg ggtgctgtct ctgaagaagc agagtltcat taccgttatt gtagccccaa			1245
tgicattatg taattattac ccag			1269

&lt;210&gt; 41

&lt;211&gt; 257

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo Sapiens

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Deduced Amino Acid Sequence of Novel Collectin variant from Nucleotide Sequence set out in SEQ ID NO:40.

&lt;400&gt; 41

```

Met Arg Gly Asn Leu Ala Leu Val Gly Val Leu Ile Ser Leu Ala Phe
 1             5             10             15
Leu Ser Leu Leu Pro Ser Gly His Pro Gln Pro Ala Gly Asp Asp Ala
      20             25             30
Cys Ser Val Gln Ile Leu Val Pro Gly Leu Lys Gly Asp Ala Gly Glu
      35             40             45
Lys Gly Asp Lys Gly Ala Pro Gly Arg Pro Gly Arg Val Gly Pro Thr
      50             55             60
Gly Glu Lys Gly Glu Lys Gly Asp Ser Gly Asp Ile Gly Pro Pro Gly
      65             70             75             80
Pro Asn Gly Glu Pro Gly Leu Pro Cys Glu Cys Ser Gln Leu Arg Lys
      85             90             95
Ala Ile Gly Glu Met Asp Asn Gln Val Ser Gln Leu Thr Ser Glu Leu
      100            105            110
Lys Phe Ile Lys Asn Ala Val Ala Gly Val Arg Glu Thr Glu Ser Lys
      115            120            125
Ile Tyr Leu Leu Val Lys Glu Glu Lys Arg Tyr Ala Asp Ala Gln Leu
      130            135            140
Ser Cys Gln Gly Arg Gly Gly Thr Leu Ser Met Pro Lys Asp Glu Ala
      145            150            155            160
Ala Asn Gly Leu Met Ala Ala Tyr Leu Ala Gln Ala Gly Leu Ala Arg
      165            170            175
Val Phe Ile Gly Ile Asn Asp Leu Glu Lys Glu Gly Ala Phe Val Tyr
      180            185            190
Ser Asp His Ser Pro Met Arg Thr Phe Asn Lys Trp Arg Ser Gly Glu
      195            200            205
Pro Asn Asn Ala Tyr Asp Glu Glu Asp Cys Val Glu Met Val Ala Ser
      210            215            220
Gly Gly Trp Asn Asp Val Ala Cys His Thr Thr Met Tyr Phe Met Cys
      225            230            235            240

```

Glu Phe Asp Lys Glu Asn Met

245

<210> 42

<211> 48

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<220>

<223> Deduced Amino Acid Sequence of a collagen-like domain of mutated N  
ovel Collectin.

<400> 42

Gly Leu Lys Gly Asp Met Gly Asp Lys Gly Gln Lys Gly Ser Val Gly

1 5 10 15

Arg His Gly Lys Ile Gly Pro Ile Gly Ser Lys Gly Glu Lys Gly Asp

20 25 30

Ser Gly Asp Ile Gly Pro Pro Gly Pro Asn Gly Glu Pro Gly Leu Pro

35 40 45

<210> 43

<211> 24

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<220>

<223> Deduced Amino Acid Sequence of a collagen-like domain of mutated N  
ovel Collectin.

<400> 43

Gly Leu Lys Gly Glu Lys Gly Asp Ser Gly Asp Ile Gly Pro Pro Gly

1 5 10 15

Pro Asn Gly Glu Pro Gly Leu Pro

20

<210> 44

<211> 48

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Deduced Amino Acid Sequence of a collagen-like domain of mutated Novel Collectin.

&lt;400&gt; 44

Gly	Leu	Lys	Gly	Asp	Ala	Gly	Glu	Lys	Gly	Asp	Lys	Gly	Ala	Pro	Gly
1				5				10					15		
Arg	Pro	Gly	Arg	Val	Gly	Pro	Thr	Gly	Glu	Lys	Gly	Glu	Lys	Gly	Asp
			20					25					30		
Ser	Gly	Asp	Ile	Gly	Pro	Pro	Gly	Pro	Asn	Gly	Glu	Pro	Gly	Leu	Pro
		35					40						45		

&lt;210&gt; 45

&lt;211&gt; 813

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Homo Sapiens

&lt;400&gt; 45

atgaggggga	atctggccct	ggtagggcgtt	ctaatacagcc	tggccttccct	gtcactgtctg	60
ccatctggac	atcctcagcc	ggctggcgat	gacgcctgtct	ctgtgcagat	cctcgtccct	120
ggcctcaaag	gggatgcggg	agagaaggga	gacaaaggcg	cccccgacg	gccctggaaga	180
gtcggcccca	cgggagaaaa	aggagacatg	ggggacaaag	gacagaaagg	cagtgtgggt	240
cgtaatggaa	aaattgggtcc	cattggctct	aaaggtgaga	aaggagattc	cggtagacata	300
ggacccccctg	gtcctaattg	agaaccaggc	ctcccatgtg	agtcagacca	gctgcgcaag	360
gccatcgggg	agatggacaa	ccaggtctct	cagctgacca	gcgagctcaa	gttcatcaag	420
aatgtgtcg	ccggtgtcg	cgagacggag	agcaagatct	acctgtgtgt	gaaggaggag	480
aagcgctacg	cggacgcca	gctgtccctg	cagggccgcg	ggggcacgct	gagcatgccc	540
aaggacgagg	ctgccaatgg	cctgatggcc	gcataacctg	cgcaagccgg	cctggcccgt	600
gtcttcatcg	gcataacga	cctggagaag	gagggcgccct	tcgtgtactc	tgaccactcc	660
cccatgcgga	ccttcaacaa	gtggcgcagc	ggtgagccca	acaatgccta	cgacgaggag	720
gactgcgtgg	agatggtggc	ctcgggcggc	tggaacgacg	tgccctgcca	caccacatg	780
tacttcatgt	gtgagtttga	caaggagaac	atg			813

&lt;210&gt; 46

&lt;211&gt; 735

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Homo Sapiens

&lt;400&gt; 46

atgtgtggg tgcctccgag tccctacggt tgtcttccct gcgcccctgcc aggggatgcg 60  
 ggagagaagg gagacaaagg cgcccccgga cggcctggaa gaticggccc cacgggagaa 120  
 aaaggagaca tgggggacaa aggacagaaa ggcagtgtgg gtcgtcatgg aaaaatiggt 180  
 cccatiggct cttaaaggta gaaaggagat tccggtgaca taggaccccc tggicctaat 240  
 ggagaaccag gcctcccatg tgagtgcagc cagctgcgca aggccatcgg ggagatggac 300  
 aaccaggctc ctacagctgac cagcgagctc aagttcatca agaattgctg cgccggtgig 360  
 cgcgagacgg agagcaagat ctaccigtg gtaaggagg agaagcgcta cgccggacgcc 420  
 cagctgtcct gccagggccg cgggggcacg ctgagcaigc ccaaggacga ggctgccaat 480  
 ggctgatgg ccgcatacct ggcgcaagcc ggcttggccc gtgtcttcat cgcatcaac 540  
 gacctggaga aggagggcgc cttcgtgtac tctgaccact ccccatgcg gaccttcaac 600  
 aagtggcgca gcggtgagcc caacaatgcc tacgacgagg aggactgcgt ggagatggtg 660  
 gccicgggcg gctggaacga cgtggccctgc cacaccacca tgtacttcat gtgtgagitt 720  
 gacaaggaga acatg 735

<210> 47

<211> 159

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 47

Cys Glu Cys Ser Gln Leu Arg Lys Ala Ile Gly Glu Met Asp Asn Gln  
 1 5 10 15  
 Val Ser Gln Leu Thr Ser Glu Leu Lys Phe Ile Lys Asn Ala Val Ala  
 20 25 30  
 Gly Val Arg Glu Thr Glu Ser Lys Ile Tyr Leu Leu Val Lys Glu Glu  
 35 40 45  
 Lys Arg Tyr Ala Asp Ala Gln Leu Ser Cys Gln Gly Arg Gly Gly Thr  
 50 55 60  
 Leu Ser Met Pro Lys Asp Glu Ala Ala Asn Gly Leu Met Ala Ala Tyr  
 65 70 75 80  
 Leu Ala Gln Ala Gly Leu Ala Arg Val Phe Ile Gly Ile Asn Asp Leu  
 85 90 95  
 Glu Lys Glu Gly Ala Phe Val Tyr Ser Asp His Ser Pro Met Arg Thr  
 100 105 110  
 Phe Asn Lys Trp Arg Ser Gly Glu Pro Asn Asn Ala Tyr Asp Glu Glu  
 115 120 125  
 Asp Cys Val Glu Met Val Ala Ser Gly Gly Trp Asn Asp Val Ala Cys  
 130 135 140  
 His Thr Thr Met Tyr Phe Met Cys Glu Phe Asp Lys Glu Asn Met  
 145 150 155

<210> 48  
 <211> 477  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 48  
 tgtgagtgc gccagctgcg caaggccaic ggggagatgg acaaccaggt ctctcagctg 60  
 accagcgagc tcaagttaai caagaatgci gtcgccggtg tgcgcgagac ggagagcaag 120  
 atctacctgc tggigaagga ggagaagcgc tacgcggacg cccagctgic ctgccagggc 180  
 cgcgggggca cgtgagcat gcccaaggac gaggctgcca atggcctgat ggccgcatac 240  
 ctggcgcaag cgggctggc cgtgtcttc atcgcatca acgacctgga gaaggagggc 300  
 gccctcgigt actctgacca ctccccatg cggacctica acaagtggcg cagcggtag 360  
 cccaacaatg cctacgacga ggaggactgc gtggagatgg tggcctcggg cggctggaac 420  
 gacgtggcct gccacaccac catgtacttc atgtgtgagt ttgacaagga gaacatg 477

<210> 49  
 <211> 72  
 <212> PRT  
 <213> Homo Sapiens

<400> 49  
 Gly Leu Lys Gly Asp Ala Gly Glu Lys Gly Asp Lys Gly Ala Pro Gly  
 1 5 10 15  
 Arg Pro Gly Arg Val Gly Pro Thr Gly Glu Lys Gly Asp Met Gly Asp  
 20 25 30  
 Lys Gly Gln Lys Gly Ser Val Gly Arg His Gly Lys Ile Gly Pro Ile  
 35 40 45  
 Gly Ser Lys Gly Glu Lys Gly Asp Ser Gly Asp Ile Gly Pro Pro Gly  
 50 55 60  
 Pro Asn Gly Glu Pro Gly Leu Pro  
 65 70

<210> 50  
 <211> 69  
 <212> PRT  
 <213> Homo Sapiens

<400> 50  
 Gly Asp Ala Gly Glu Lys Gly Asp Lys Gly Ala Pro Gly Arg Pro Gly

1                      5                      10                      15  
 Arg Val Gly Pro Thr Gly Glu Lys Gly Asp Met Gly Asp Lys Gly Gln  
                     20                      25                      30  
 Lys Gly Ser Val Gly Arg His Gly Lys Ile Gly Pro Ile Gly Ser Lys  
                     35                      40                      45  
 Gly Glu Lys Gly Asp Ser Gly Asp Ile Gly Pro Pro Gly Pro Asn Gly  
                     50                      55                      60  
 Glu Pro Gly Leu Pro  
 65

<210> 51  
 <211> 21  
 <212> PRT  
 <213> Homo Sapiens

<400> 51  
 Gly Glu Lys Gly Asp Ser Gly Asp Ile Gly Pro Pro Gly Pro Asn Gly  
 1                      5                      10                      15  
 Glu Pro Gly Leu Pro  
 20

<210> 52  
 <211> 45  
 <212> PRT  
 <213> Homo Sapiens

<400> 52  
 Gly Asp Met Gly Asp Lys Gly Gln Lys Gly Ser Val Gly Arg His Gly  
 1                      5                      10                      15  
 Lys Ile Gly Pro Ile Gly Ser Lys Gly Glu Lys Gly Asp Ser Gly Asp  
                     20                      25                      30  
 Ile Gly Pro Pro Gly Pro Asn Gly Glu Pro Gly Leu Pro  
                     35                      40                      45

<210> 53  
 <211> 40  
 <212> PRT  
 <213> Homo Sapiens

<400> 53

Met Arg Gly Asn Leu Ala Leu Val Gly Val Leu Ile Ser Leu Ala Phe  
 1 5 10 15  
 Leu Ser Leu Leu Pro Ser Gly His Pro Gln Pro Ala Gly Asp Asp Ala  
 20 25 30  
 Cys Ser Val Gln Ile Leu Val Pro  
 35 40

<210> 54  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> Homo Sapiens

<400> 54  
 Met Trp Trp Val Pro Pro Ser Pro Tyr Gly Cys Leu Pro Cys Ala Leu  
 1 5 10 15  
 Pro

<210> 55  
 <211> 591  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 55  
 atggtggagg tgcctccgag tccctacggt tgtcttccct gcgcccctgcc aggtgagaaa 60  
 ggagattccg gtgacatagg accccctggt cctaattggag aaccaggcct cccatgtgag 120  
 tgcagccagc tgcgcaaggc catcggggag atggacaacc aggtctctca gctgaccagc 180  
 gagctcaagt tcaicaagaa tgcctgctgc gggtgtgcgc agacggagag caagatctac 240  
 ctgctgggta aggaggagaa gcgctacgcg gacgcccagc tgtcctgcca gggccgcggg 300  
 ggcacgciga gcatgcccaa ggacgaggct gccaatggcc tgaatggccg atacctggcg 360  
 caagccggcc tggcccggtg ctctcatcggc atcaacgacc tggagaagga gggcgccctc 420  
 gtgtactctg accactcccc catgcggacc ttcaacaagt ggcgagcgg tgagcccaac 480  
 aatgcctacg acgaggagga ctgcgtggag atggtggcct cgggcggctg gaacgacgtg 540  
 gccctgccaca ccacatgta ctctatgtgt gagtttgaca aggagaacat g 591

<210> 56  
 <211> 663  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 56

atgtgggtggg tgcctccgag tccctacggt tgtcttccct gcgcccctgcc aggagacatg	60
ggggacaaag gacagaaagg cagtgtgggt cgtcatggaa aaattgggtcc cattggctct	120
aaagggtgaga aaggagattc cggtagacata ggaccccctg gtcctaatgg agaaccaggc	180
ctcccatgtg agtgcagcca gctgcgcaag gccatcgggg agatggacaa ccaggctct	240
cagctgacca gcgagctcaa gttaatcaag aatgctgtcg ccggtgtgcg cgagacggag	300
agcaagatct acctgttgtt gaaggaggag aagcgctacg cggacgcca gctgtcctgc	360
cagggccgcg ggggcacgct gagcatgccc aaggacgagg ctgccaatgg cctgatggcc	420
gcataacctg cgcaagccgg cctggcccgt gtcttcatcg gcatcaacga cctggagaag	480
gagggcgctt tctgttactc tgaccactcc cccatgcgga ccttcaacaa gtggcgccagc	540
ggtgagccca acaatgccta cgacgaggag gactgcgtgg agatgggtggc ctggggcggc	600
tggaacgacg tggcctgcca caccacatg tacttcatgt gtgagttga caaggagaac	660
atg	663

&lt;210&gt; 57

&lt;211&gt; 663

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Homo Sapiens

&lt;400&gt; 57

atgtgggtggg tgcctccgag tccctacggt tgtcttccct gcgcccctgcc aggggatgcg	60
ggagagaagg gagacaaagg cgcccccgga cggcctggaa gattcgcccc cacgggagaa	120
aaagggtgaga aaggagattc cggtagacata ggaccccctg gtcctaatgg agaaccaggc	180
ctcccatgtg agtgcagcca gctgcgcaag gccatcgggg agatggacaa ccaggctct	240
cagctgacca gcgagctcaa gttaatcaag aatgctgtcg ccggtgtgcg cgagacggag	300
agcaagatct acctgttgtt gaaggaggag aagcgctacg cggacgcca gctgtcctgc	360
cagggccgcg ggggcacgct gagcatgccc aaggacgagg ctgccaatgg cctgatggcc	420
gcataacctg cgcaagccgg cctggcccgt gtcttcatcg gcatcaacga cctggagaag	480
gagggcgctt tctgttactc tgaccactcc cccatgcgga ccttcaacaa gtggcgccagc	540
ggtgagccca acaatgccta cgacgaggag gactgcgtgg agatgggtggc ctggggcggc	600
tggaacgacg tggcctgcca caccacatg tacttcatgt gtgagttga caaggagaac	660
atg	663

&lt;210&gt; 58

&lt;211&gt; 813

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Mus musculus

&lt;400&gt; 58

atgatgaggg acctggctct tgcaggcatg ctgattagcc tggctttcct gtccctgctg	60
ccatctggat gtccctcagca gaccacagag gacgccctgt ctgtgcagat tcttgtcccc	120

ggccitcaaag gggatgcagg agaaaaggga gacaaaggag ccccaggatg gccaggaaga	180
gtcggcccta caggagaaaa aggagacatg ggggacaaag gacagaaagg cacigtgggc	240
cgccatggaa aaatiggicc catlggcgca aaaggigaaa aaggagatic tggigataic	300
ggacccccctg gccccagtgg agaacctggt attccatgtg agtgcagica gctgaggaag	360
gctatlgggg agatggacaa ccaggtcact caacigacaa ctgagctaaa attcataaaa	420
aatgcigtig ctggcgtgcg cgagactgag agcaagatct acctgciggt gaaggaggag	480
aagcggtacg cagatgcccc gctgtccctg caagccccgag gcggcacact gagcatgcc	540
aaagacgagg cagccaatgg cclgalggct tcalaccigg cacaggctgg cctggccccga	600
gcttcatcg gtatcaatga cciggagaaa gaaggigtct tctgtactc ggaccgticc	660
cccatgcaga ccttcaacaa gtggcgctgt ggagagccca acaacgccta tcatgaggag	720
gactgtgtgg agatggctgg ctgaggctgg tggaaatgat tggcctgcca cattaccaig	780
tacttcatgt gcgagttaga caaagagaac ttg	813

&lt;210&gt; 59

&lt;211&gt; 669

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Homo Sapiens

&lt;400&gt; 59

atgaggggga atctggccct ggtgggctgt ctaatcagcc tggccttct gtcactgtg	60
ccatctggac atctcagcc ggctggcgat gacgctgct ctgtcagat cctcgtccct	120
ggccitcaaag gtgagaaagg agattccgt gacataggac cccctggtcc taatggagaa	180
ccaggcctcc catgtgagtg cagccagctg cgcaaggcca tggggagat ggacaaccag	240
gtctctcagc tgaccagcga gctcaagtgc atcaagaatg ctgtcgccgg tgtgcgcgag	300
acggagagca agatctacct gctggtgaag gaggagaagc gctacgcgga cggccagctg	360
tcctgccagg gccgcggggg cagctgagc atgcccagg acgaggctgc caatggcctg	420
atggccgcat acctggcgca agccggcctg gccgtgtct tcatcggcct caacgacctg	480
gagaaggagg gcgccttctg gtactctgac cactcccca tgcggaccti caacaagtgg	540
cgcagcggtg agcccaacaa tgcctacgac gaggaggact gcgtggagat ggtggcctcg	600
ggcggctgga acgacgtggc ctgccacacc accatgtact tcatgtgtga gtttgacaag	660
gagaacatg	669

&lt;210&gt; 60

&lt;211&gt; 741

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Homo Sapiens

&lt;400&gt; 60

atgaggggga atctggccct ggtgggctgt ctaatcagcc tggccttct gtcactgtg	60
ccatctggac atctcagcc ggctggcgat gacgctgct ctgtcagat cctcgtccct	120

ggcctcaaag gagacatggg ggacaaagga cagaaaggca gtgtgggtcg tcatggaaaa	180
attgggtccca ttgggtctaa aggtgagaaa ggagattccg gtgacatagg accccctgggt	240
cctaattggag aaccaggcct cccatgtgag tgcagccagc tgcgcaaggc catcggggag	300
atggacaacc aggtctctca gctgaccagc gagctcaagt tcatcaagaa tgcgtgtgcc	360
ggtgtgcgcg agacggagag caagatctac ctgctggiga aggaggagaa gcgctacgcg	420
gacgcccagc tgtccigcca gggccgcggg ggcacgciga gcatgccc aa ggacgaggct	480
gccaatggcc tgaatggccg atacciggcg caagccggcc tggcccggt cttcatcggc	540
atcaacgacc tggagaagga gggcgccctt gtgtactctg accactcccc catgcggacc	600
ttcaacaagt ggcgagcgg tgaagccaac aatgcctacg acgaggagga ctgcgtggag	660
atggtggcct cgggcggctg gaacgacgtg gcctgccaca ccaccaigta cttcatgtgt	720
gagtttgaca aggagaacat g	741

&lt;210&gt; 61

&lt;211&gt; 741

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Homo Sapiens

&lt;400&gt; 61

atgaggggga atctggccct ggtagggcgtt ctaatcagcc tggccttccct gtcactgtctg	60
ccatctggac atcctcagcc ggctggcgat gacgcctgct ctgtgcagat cctcgtccct	120
ggcctcaaag gggatgcggg agagaaggga gacaaaggcg ccccgaggag gcciggaaga	180
gtcggcccca cgggagaaaa aggtgagaaa ggagattccg gtgacatagg accccctgggt	240
cctaattggag aaccaggcct cccatgtgag tgcagccagc tgcgcaaggc catcggggag	300
atggacaacc aggtctctca gctgaccagc gagctcaagt tcatcaagaa tgcgtgtgcc	360
ggtgtgcgcg agacggagag caagatctac ctgctggiga aggaggagaa gcgctacgcg	420
gacgcccagc tgtccigcca gggccgcggg ggcacgciga gcatgccc aa ggacgaggct	480
gccaatggcc tgaatggccg atacciggcg caagccggcc tggcccggt cttcatcggc	540
atcaacgacc tggagaagga gggcgccctt gtgtactctg accactcccc catgcggacc	600
ttcaacaagt ggcgagcgg tgaagccaac aatgcctacg acgaggagga ctgcgtggag	660
atggtggcct cgggcggctg gaacgacgtg gcctgccaca ccaccaigta cttcatgtgt	720
gagtttgaca aggagaacat g	741

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP01/03468

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl.<sup>7</sup> C07K14/47, C12N15/12, C12P21/02, A01K67/027, C07K16/18, G01N33/53

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl.<sup>7</sup> C07K14/47, C12N15/12, C12P21/02, A01K67/027, C07K16/18, G01N33/53

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

GenBank/EMBL/DDBJ/GeneSeq

Swissprot/PIR/GeneSeq

WPIDS/BIOSIS/BIOTECHABS/MEDLINE/CA

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 00/18922 A2 (Incyte Pharmaceuticals, Inc.), 06 April, 2000 (06.04.00),	1, 2, 5, 6, 19, 20, 27-36, 39
Y	SEQ ID 6, 13 & AU 9965035 A	3, 4, 7-18, 21-26
X	WO 99/63088 A2 (Genentech, Inc.), 09 December, 1999 (09.12.99),	1, 2, 5, 6, 19, 20, 27-36, 39
Y	Figs. 251, 252 & AU 9943286 A	3, 4, 7-18, 21-26
Y	Floros J. et al. Genetics of the hydrophilic surfactant	3, 4, 7-18, 21-26
A	proteins A and D, Biochimica et Biophysica Acta, 1998, Vol. 1408, pp. 312-322	1, 2, 5, 6, 19, 20, 27-36, 39
Y	Wada M. et al. Characterization of rat liver mannan-binding	3, 4, 7-18, 21-26
A	protein gene, J. Biochem., 1992, Vol. 111, pp. 66-73	1, 2, 5, 6, 19, 20, 27-36, 39
PX	WO 00/53755 A2 (Genentech, Inc.), 14 September, 2000 (14.09.00),	1, 2, 5, 6, 19, 20, 27-36, 39
PY	& AU 200024952 A	3, 4, 7-18, 21-26

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

\* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search  
17 July, 2001 (17.07.01)Date of mailing of the international search report  
31 July, 2001 (31.07.01)Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP01/03468

**Box I** Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☒ Claims Nos.: 37,38,40  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:  
  
Concerning agonists and antagonists of the novel collectins and drugs obtained by the screening method with the use of the novel collectins, no particular compound is disclosed in examples, etc. in the description. Also, it is never described therein what compounds are involved in the scopes thereof. Accordingly, it is completely unknown what compounds are involved in the scopes thereof in practice.  
Such being the case, the inventions as set forth in the above claims are not so clear as enabling any meaningful international search.
3. ☐ Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

**Box II** Observations where unity of invention is lacking (Continuation of Item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.  
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP01/03468

## C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PX PY	WO 00/73454 A1 (Genentech, Inc.), 07 December, 2000 (07.12.00), & AU 200037743 A	1, 2, 5, 6, 19, 20, 27-36, 39 3, 4, 7-18, 21-26

## A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl' C07K14/47, C12N15/12, C12P21/02, A01K67/027, C07K16/18, G01N33/53

## B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl' C07K14/47, C12N15/12, C12P21/02, A01K67/027, C07K16/18, G01N33/53

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

GenBank/EMBL/DDBJ/GeneSeq

Swissprot/PIR/GeneSeq

WPIDS/BIOSIS/BIOTECHABS/MEDLINE/CA (STN)

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X — Y	WO 00/18922 A2 (Incyte Pharmaceuticals, Inc.) 6.4月.2000 (06.04.00), SEQ ID 6, 13 & AU 9965035 A	1, 2, 5, 6, 19, 20, 27-36, 39 3, 4, 7-18, 21- 26
X — Y	WO 99/63088 A2 (Genentech, Inc.) 9.12月.1999 (09.12.99), Fig. 251, 252 & AU 9943286 A	1, 2, 5, 6, 19, 20, 27-36, 39 3, 4, 7-18, 21- 26

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&amp;」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

17.07.01

国際調査報告の発送日

31.07.01

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

深草 亜子



4B

9548

電話番号 03-3581-1101 内線 3448

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y — A	Floros J. et al. Genetics of the hydrophilic surfactant proteins A and D, Biochimica et Biophysica Acta, 1998, Vol. 1408, p. 312-322	3, 4, 7-18, 21-26 1, 2, 5, 6, 19, 20, 27-36, 39
Y — A	Wada M. et al. Characterization of rat liver mannan-binding protein gene, J. Biochem., 1992, Vol. 111, p. 66-73	3, 4, 7-18, 21-26 1, 2, 5, 6, 19, 20, 27-36, 39
PX — PY	WO 00/53755 A2 (Genentech, Inc.) 14. 9月. 2000 (14. 09. 00) & AU 200024952 A	1, 2, 5, 6, 19, 20, 27-36, 39 3, 4, 7-18, 21-26
PX — PY	WO 00/73454 A1 (Genentech, Inc.) 7. 12月. 2000 (07. 12. 00) & AU 200037743 A	1, 2, 5, 6, 19, 20, 27-36, 39 3, 4, 7-18, 21-26

## 第Ⅰ欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第1ページの2の続き)

法第8条第3項 (PCT17条(2)(a)) の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☐ 請求の範囲 \_\_\_\_\_ は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、
2. ☒ 請求の範囲 37, 38, 40 は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、  
新規コレクチンのアゴニスト又はアンタゴニスト、新規コレクチンを用いたスクリーニング方法によって得られた薬物については明細書中に実施例等をもって何ら具体的な化合物が開示されておらず、また、どのような化合物が包含されるかに関する他の記載もない。したがって、実際にどのような化合物が包含されるかは全く不明であり、 (特別ページに続きあり)
3. ☐ 請求の範囲 \_\_\_\_\_ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

## 第Ⅱ欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1ページの3の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるところの国際調査機関は認めた。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☒ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**